Agilent MassHunter ワークステーション ソフトウェア

定量分析

ファミリアリゼーション ガイド

Agilent Technologies

注意

© Agilent Technologies, Inc. 2011

このマニュアルの内容は米国著作権法および国際著作権法によって保護されており、Agilent Technologies, Inc. の書面による事前の許可なく、このマニュアルの一部または全部をいかなる形態（電子データやデータの抽出または他国語への翻訳など）あるいはいかなる方法によっても複製することが禁止されています。

マニュアル番号

G3335-96108

エディション

第 1 版、2011 年 6 月

Printed in USA

Agilent Technologies, Inc.
5301 Stevens Creek Blvd.
Santa Clara, CA USA 95051

ソフトウェアリビジョン

このガイドは改訂版が作成されるまで、Agilent MassHunter ワークステーションソフトウェア - 定量分析 プログラムのリビジョン B.05.xx 以上に対して有効です。

このガイドに関するご質問は、feedback_lcms@agilent.com 宛に電子メールでお問い合わせください。

保証

このマニュアルの内容は「現状のまま」提供されることを前提としており、将来の改訂版で予告なく変更されることがあります。また、Agilent は適用される法律によって最大限許される範囲において、このマニュアルおよびそれに含まれる情報に関し、商品の適格性や特定用途に対する適合性への暗黙の保障を含み、また、それに限定されないすべての保証を明示的か暗黙的かを問わず、一切いたしません。Agilent は、このマニュアルまたはこのマニュアルに記載されている情報の提供、使用または実行に関連して生じた過誤、付随的損害あるいは間接的損害に対する責任を一切負いません。Agilent とお客様の間に書面による別の契約があり、このマニュアルの内容に対する保証条項がここに記載されている条件と矛盾する場合は、別に合意された契約の保証条項が適用されます。

技術ライセンス

本書で扱っているハードウェアおよびソフトウェアは、ライセンスに基づき提供されており、それらのライセンス条項に従う場合のみ使用または複製することができます。

権限制限の説明文

米国政府権限制限。連邦政府に与えられたソフトウェアおよび技術データの権利には、習慣的にエンドユーザー顧客に提供される権利だけが含まれます。Agilent は、FAR 12.211（技術データ）および 12.212（コンピュータソフトウェア）、国防総省に対しては DFARS 252.227-7015（技術データ – 市販品）および DFARS 227.7202-3（市販コンピュータまたはコンピュータソフトウェア付属書類の権利）に準じて、ソフトウェアの本慣例的市販ライセンスと技術データを提供します。

安全にご使用いただくために

注意

注意は、取り扱い上、危険があることを示します。これは、正しく実行されない場合、または指示を順守されない場合に、製品の損害または重要なデータの損失にいたるおそれがある操作手順や行為に対する注意を喚起しています。指示された条件を十分に理解し、条件が満たされるまで、**注意**を無視して先に進んではなりません。

警告

警告は、取り扱い上、危険があることを示します。これは、正しく実行されない場合、または指示が順守されない場合に、人身への傷害または死亡にいたるおそれがある操作手順や行為に対する注意を喚起しています。指示された条件を十分に理解し、条件が満たされるまで、警告を無視して先に進んではなりません。

このガイドでは...

ファミリアリゼーションガイドでは、定量分析プログラムの学習に役立つ実習方法を示します。システムに付属する（インストールディスクの **Data** フォルダ内の）DrugsOfAbuse の Demo バッチ（実習 1 および実習 3 ～ 5）と Verapamil-targeted（実習 2）、またはご自身で取り込んだデータを用いて、これらの練習を行うことができます。

DrugsOfAbuse バッチは、Agilent 6410 トリプル四重極 LC/MS システムで取り込まれた MRM データファイルから構成されています。Verapamil バッチは、Agilent 6500 Q-TOF LC/MS システムで取り込まれた Q-TOF データファイルから構成されています。

1 測定した MRM データファイルを使用したバッチの設定と定量

この実習では、取り込んだデータファイルを用いて、バッチテーブル、定量メソッド、ターゲット化合物を設定します。最後に、バッチを解析し、結果を保存します。この章は、Agilent 6410 トリプル四重極 LC/MS システムと Agilent 7000A トリプル四重極 GC/MS システムをご使用のユーザーが対象です。

2 測定した Q-TOF データファイルを使用したバッチの設定と定量

取り込んだデータファイルを用いて、バッチテーブル、定量メソッド、ターゲット化合物を設定します。最後に、バッチを解析し、結果を保存します。

3 定量結果のレビュー

実習バッチファイルのサンプルと化合物のデータ確認方法、レイアウトのカスタマイズ、バッチ結果を Microsoft Excel ファイルにエクスポートする方法について学習します。

4 ツールを使用した結果の評価

ツールにより、定量結果の評価やより精度の高い結果をより簡単に得ることができます。

5 定量レポートを用いた作業

指定されたテンプレートを使用してレポートを作成した後、これらのレポートを Microsoft Excel でレビューします。

正しい定量分析アイコンの選択

定量分析プログラムをインストールすると、4 つの異なるアイコンがデスクトップに表示されます。これらのアイコンから定量分析プログラムを起動すると、該当する機器タイプに合わせて、デフォルト値と機能の一部がカスタマイズされます。

デスクトップの [定量分析] アイコンをクリックすると、アイコンのフルネームが表示されます。解析するバッチのデータタイプに一致するアイコンを選択してください。

実習を開始する前に

インストールディスクの Data という名前のフォルダを、ご使用のハードディスクの任意の場所に非圧縮形式でコピーします。

このフォルダには、実習に必要なデータファイルが含まれています。先にデータファイルを ZIP 形式から解凍することが必要な場合があります。

ファイルがオリジナルからコピーされており、使用したのが自分のみで変更されていないことが明らかな場合以外は、既にシステム上にあるサンプルデータを再使用しないでください。既存のサンプルデータファイルがインストールディスク上のオリジナルファイルと正確に一致しないと、実習中に得られた結果はこのガイドで示される結果と一致しなくなります。

目次

実習 1　測定した MRM データファイルを使用したバッチの設定と定量　9

タスク 1. 新規バッチの作成　11
タスク 2. バッチに新規メソッドを設定する　14
タスク 3. ターゲット化合物の設定　17
タスク 4. 定量の設定　20
タスク 5. インテグレータの設定　26
タスク 6. バッチの解析と保存　27

実習 2　測定した Q-TOF データファイルを使用したバッチの設定と定量　29

タスク 1. 新規バッチの作成　31
タスク 2. バッチに新規メソッドを設定する　34
タスク 3. ターゲット化合物の設定　37
タスク 4. 定量の設定　39
タスク 5. バッチの解析と保存　43

実習 3　定量結果のレビュー　45

タスク 1. バッチテーブル結果のナビゲーション　46
タスク 2. 結果ウィンドウレイアウトの変更　51
タスク 3. 結果のエクスポートと印刷　58

実習 4　3 つのツールを使用した結果の評価　61

タスク 1. 検量線近似の調整　62
タスク 2. パラメータを用いない積分　65
タスク 3. 外れ値の検出　81

実習 5　定量レポートの作成　85

リファレンス　91

10 の主要機能　92

定量メソッド 96
パラメータレス積分 97
バッチ一覧: 結果 99
化合物クロマトグラムの一覧 100
化合物の確認 102
化合物キャリブレーション 103

実習 1
測定した MRM データファイルを使用したバッチの設定と定量

タスク 1. 新規バッチの作成　11
タスク 2. バッチに新規メソッドを設定する　14
タスク 3. ターゲット化合物の設定　17
タスク 4. 定量の設定　20
タスク 5. インテグレータの設定　26
タスク 6. バッチの解析と保存　27

この実習では、測定したデータファイルを使用して定量メソッドを設定します。インストールディスクの **DrugsOfAbuse** データファイルを用いて実習を行い、以下のタスクの実施方法を学習します。

- 未知サンプルとキャリブレーション含む DrugsOfAbuse データファイル（アンフェタミン（amphetamine）、コカイン（cocaine）、メタンフェタミン（methamphetamine）、MDMA）のバッチテーブルの設定。
- 最高濃度キャリブレーション標準サンプルに基づく新規定量メソッドの設定。
- ターゲット化合物の設定。
  - データファイル中の化合物の MRM トランジションとクロマトグラフパラメータの表示。
  - 各化合物に対する内部標準の設定。
- メソッドの定量データベースの設定。
  - 最高濃度の検量線用標準サンプル濃度および希釈パターンの入力。
  - クオリファイアイオンと検量線の設定。
- バッチの自動定量および結果の保存。

実習方法を示す表は、以下の 3 列に分けて表示されています。

- ステップ - 操作概要です。各自でプログラムを実行します。
- 詳細説明 - ステップの実行に必要な手順を示しています。
- コメント - 実習の各ステップに関するヒントや追加情報を記します。

始める前に...

インストールディスクの **Data** フォルダからご使用のシステムのフォルダに、**DrugsOfAbuse** フォルダがコピーされていることを確認します。

タスク 1. 新規バッチの作成

このタスクでは、3 つの未知サンプルと DrugsOfAbuse（アンフェタミン（amphetamine）、コカイン（cocaine）、メタンフェタミン（methamphetamine）、MDMA）の一連のキャリブレーションサンプルを含む、データファイルを含むバッチテーブルを設定します。

ステップ	詳細説明	コメント
1 サンプルを登録する新規バッチを作成します。 • **DrugsOfAbuse** フォルダからすべてのデータファイルを選択します。 • バッチファイルに **iii_test_01** と名前を付けます。ここで、「iii」はユーザーのイニシャルです。	a 定量分析プログラムを起動するには、デスクトップの [**QQQ 定量分析**] アイコン をクリックします。 プログラムを初めて使用する場合、図 1 のようにデフォルトレイアウトが表示されます。	• [スタート] メニューから [**すべてのプログラム**] > [**Agilent**] > [**MassHunter Workstation**] > [**定量分析（QQQ）**] をクリックして、プログラムにアクセスすることもできます。 • QQQ データ向けの機能を使用できます。

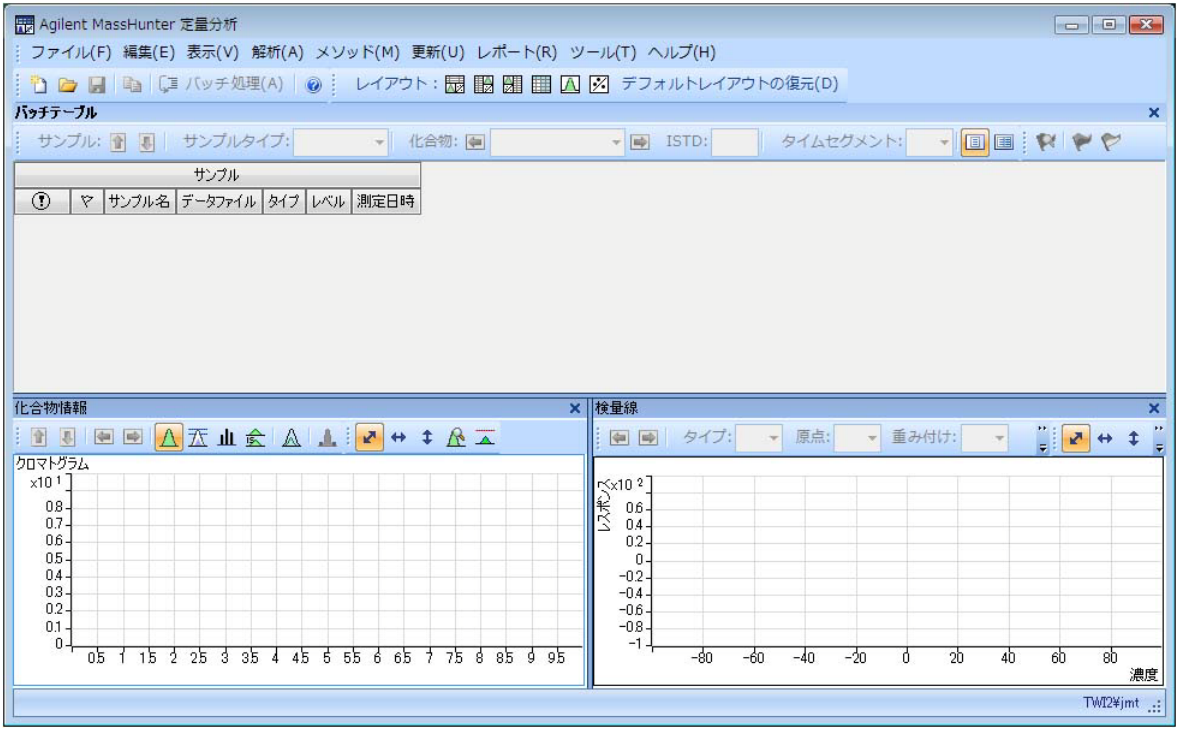


図 1 デフォルトレイアウト

ステップ	詳細説明	コメント
	b [**ファイル**] > [**新規バッチ**] をクリックします。[**新規バッチ**] ダイアログボックスが開きます。 **c** フォルダ **\Your Directory \DrugsOfAbuse** に移動します。 **d** バッチファイル名として「**iii_Test_01**」を入力し、[**開く**] をクリックします。	• デフォルトレイアウトが表示されない場合、新規バッチを作成する前にツールバーの [**デフォルトレイアウトの復元**] をクリックします。
2 **DrugsOfAbuse** フォルダ内のすべてのサンプルをバッチに追加します。	**a** [**ファイル**] > [**サンプルの追加**] をクリックします。[**サンプルの追加**] ダイアログボックスが表示されます。 **b** [**すべて選択**] をクリックしてすべてのサンプルを選択し、[**OK**] をクリックしてそれらをバッチに追加します。 これで、[**バッチテーブル**] は空ではなくなります。この段階で、キャリブレーションサンプル、QC サンプル、未知サンプルがバッチに含まれます。図 2 を参照してください。	• 未知サンプルは 3 つのみで、1 つのブランクサンプル、5 つの異なるレベルのキャリブレーションサンプル、2 つの QC サンプルファイルがあることに注目してください。

ステップ	詳細説明	コメント

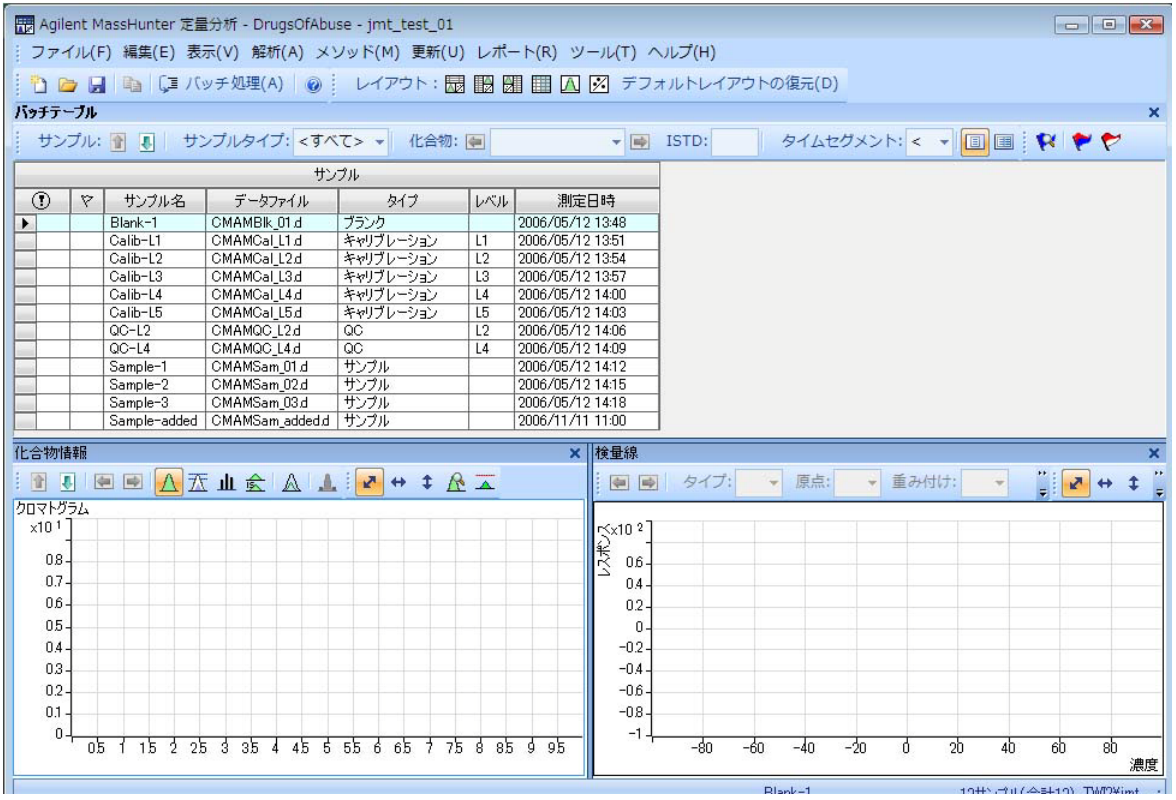
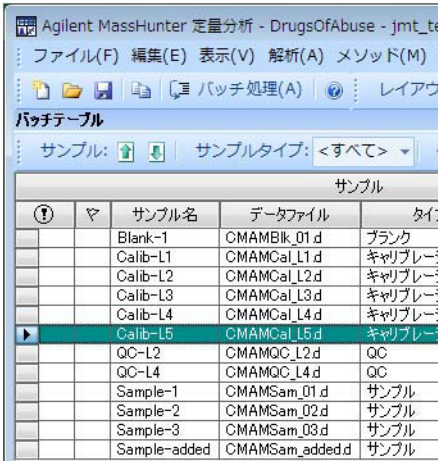


図 2　定量前の DrugsOfAbuse サンプルのバッチテーブル

タスク 2. バッチに新規メソッドを設定する

このタスクでは、最も高濃度のキャリブレーションサンプルのデータファイルに基づき、新規の定量用メソッドを設定する方法を示します。

ステップ	詳細説明	コメント
1 測定した MRM データから新規メソッドを作成します。 • 最もシグナル強度の高い検量線用データファイルを使用します。	a カーソルを用いて、下図のように濃度レベルの最も高いキャリブレーションサンプルを強調表示させます。	• 高濃度キャリブレーションサンプル等の、化合物に対してシグナル強度の高いサンプルを用いることで、適正なリテンションタイムとクオリファイア比がメソッドへ設定されるようにします。



	b [**メソッド**] > [**編集**] をクリックし、メソッド編集モードに切り替えます。 [**メソッドタスク**] が、図 3 のようにビューの左側に表示されます。	• 図 3 はメソッド編集のデフォルトレイアウトを示しています。 • デフォルトレイアウトが表示されない場合、次のステップで新規メソッドを作成する前にツールバーの [**デフォルトレイアウトの復元**] をクリックします。

ステップ	詳細説明	コメント

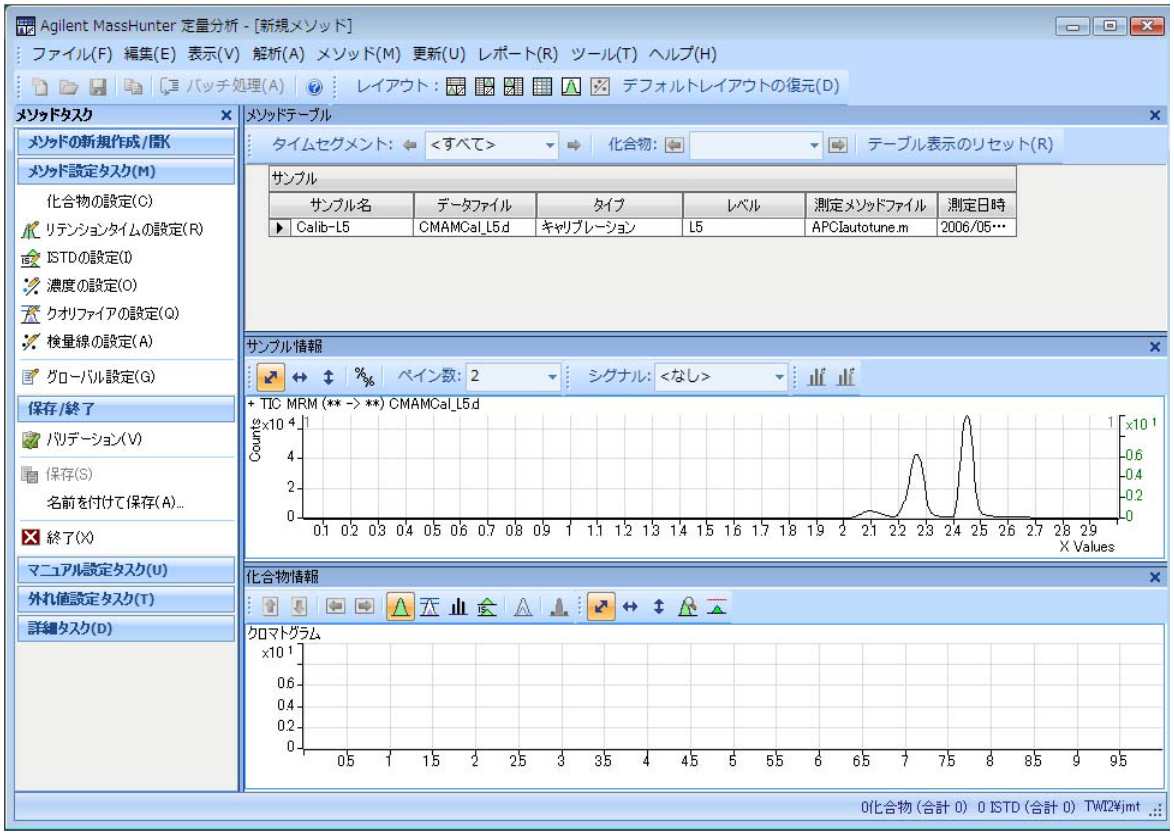
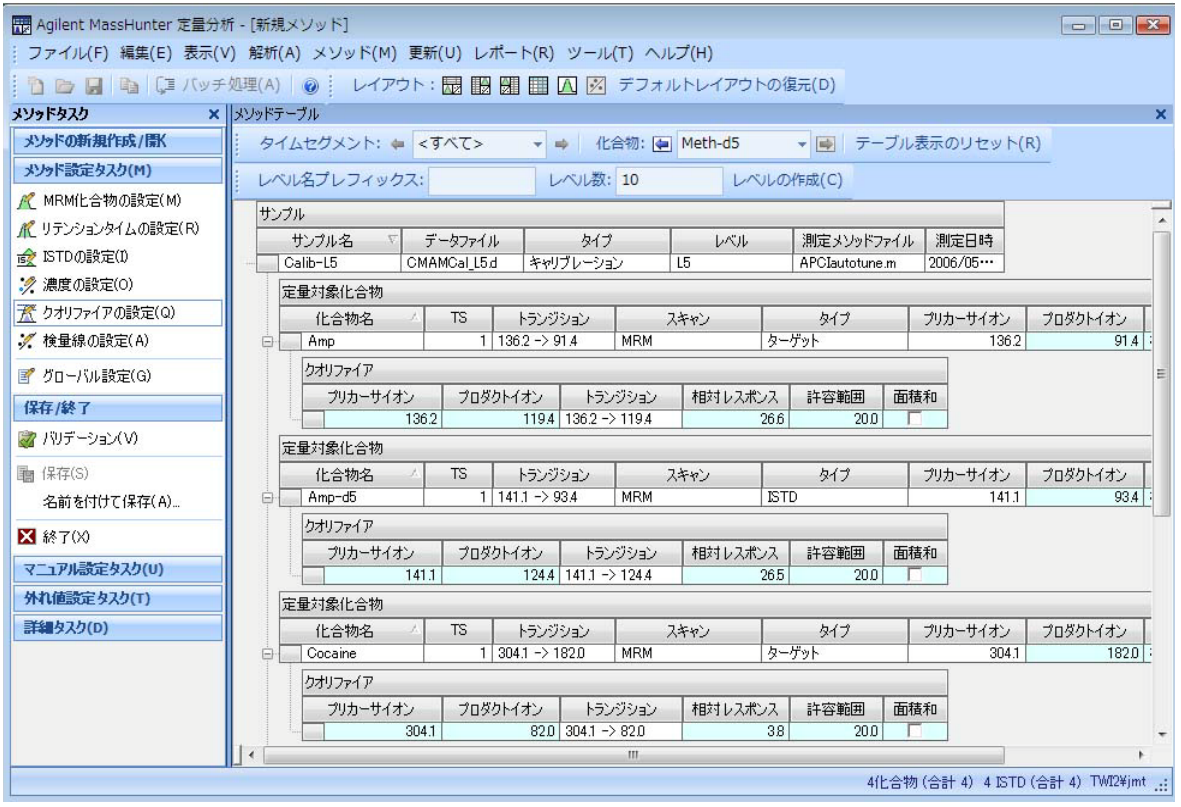


図 3　メソッド編集モード

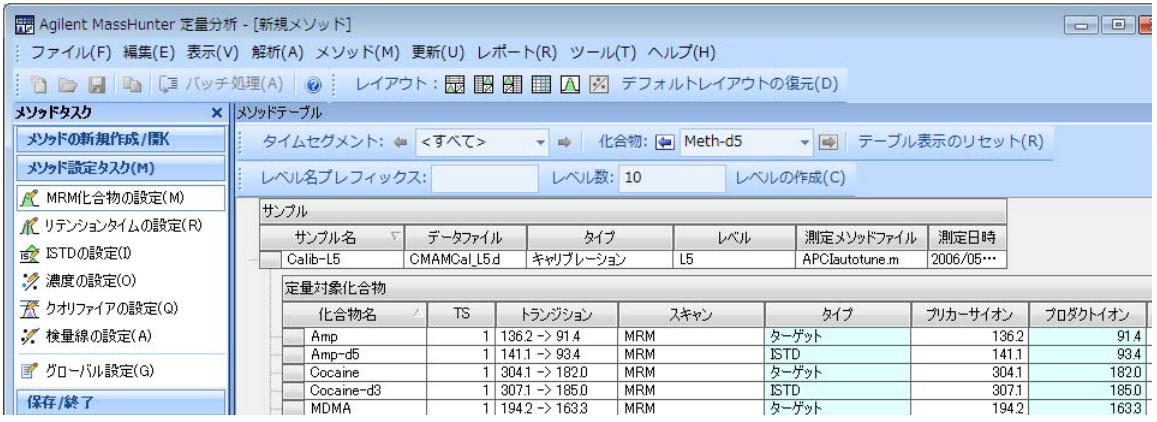
ステップ	詳細説明	コメント
	c [**メソッドテーブル**] の左側のサイドバーの [**メソッドタスク**] で、[**新規/メソッドを開く**] > [**測定した MRM データから新規メソッドを作成**] をクリックします。[**いいえ**] を選択すると、メソッドがバッチに適用されます。[**サンプルフォルダを選択してください...**] ダイアログボックスが表示されます。 d **CMAMCal_L5.d** をクリックし、[**開く**] をクリックし、測定メソッド情報をインポートします。	• [**メソッド**] > [**新規**] > [**測定した MRM データから新規メソッドを作成**] をクリックすることもできます。 • 下図に、レベル 5 のキャリブレーション標準のデフォルトレイアウトを示します。



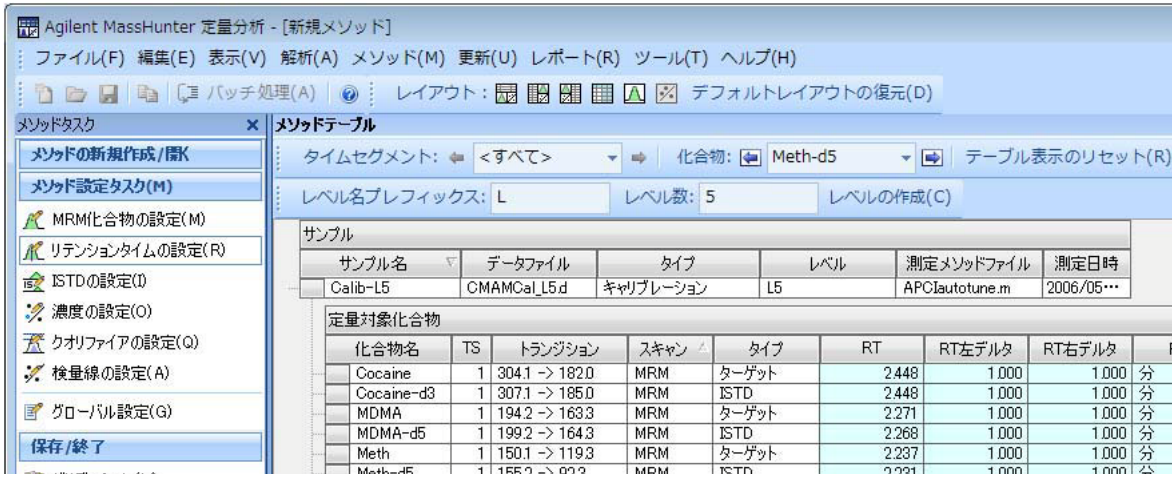
タスク 3. ターゲット化合物の設定

このタスクを用いて、個々のターゲット化合物に対して変更可能な新規定量メソッドの MRM トランジションとリテンションタイムの確認方法を学習します。また、各ターゲット化合物に対する ISTD 化合物の設定方法も学習します。

ステップ	詳細説明	コメント
1 インポートされた MRM トランジションの測定メソッドから作成された新規定量メソッドを確認します。	a [**メソッドテーブル**] ウィンドウの左側のサイドバーの [**メソッドタスク**] で、[**メソッド設定タスク**] > [**MRM 化合物の設定**] をクリックします。	• 測定メソッドには MRM トランジションに関連する化合物名が入力されています。デフォルトでは、最大シグナルが定量イオンとして選択されます。



ステップ	詳細説明	コメント
	b インポートされたリテンションタイムを確認するには、[**メソッド設定タスク**] > [**リテンションタイムの設定**] をクリックします。	• 各化合物の水色のデータフィールドは変更することが可能です。



2 ISTD 化合物を設定します。 • 各ターゲット化合物の内部標準（ISTD）として、対応する重水素化化合物を割り当てます。	a [**メソッド設定タスク**] > [**ISTD の設定**] をクリックします。 b 各ターゲット化合物行で、[**ISTD 化合物名**] セルの下矢印をクリックします。	• ISTD 化合物行に ISTD 名を直接入力することはできません。

ステップ	詳細説明	コメント
	c ターゲット化合物に対応する ISTD 名をクリックします。 d 各 ISTD 化合物の [**ISTD 濃度**] を入力します。	

タスク 4. 定量の設定

このタスクでは、以下の定量パラメータをメソッドに設定する方法について説明します。

- キャリブレーションレベル
- クオリファイアイオン
- 検量線のカーブフィット

ステップ	詳細説明	コメント
1 各化合物に対して 5 つのキャリブレーションレベルを作成します。 • アンフェタミン（amphetamine）の最高濃度を 125 に設定します。 • アンフェタミン（amphetamine）に対して、1:5:2:2.5:2 の希釈パターンを設定します。 • 5 つのレベルの濃度を希釈パターンと比較します。	**a** [**メソッド設定タスク**] > [**濃度の設定**] をクリックし、アンフェタミン（Amp）の [**希釈最高濃度**] 列に「125」と入力します。 **b** アンフェタミン（Amp）の [**希釈パターン**] 列に「1:5:2:2.5:2」と入力します。 **c** [**連続希釈法**] ツールバーの [**レベル名プレフィックス**] に「**L**」を、[**レベル数**] には「**5**」を入力します。	

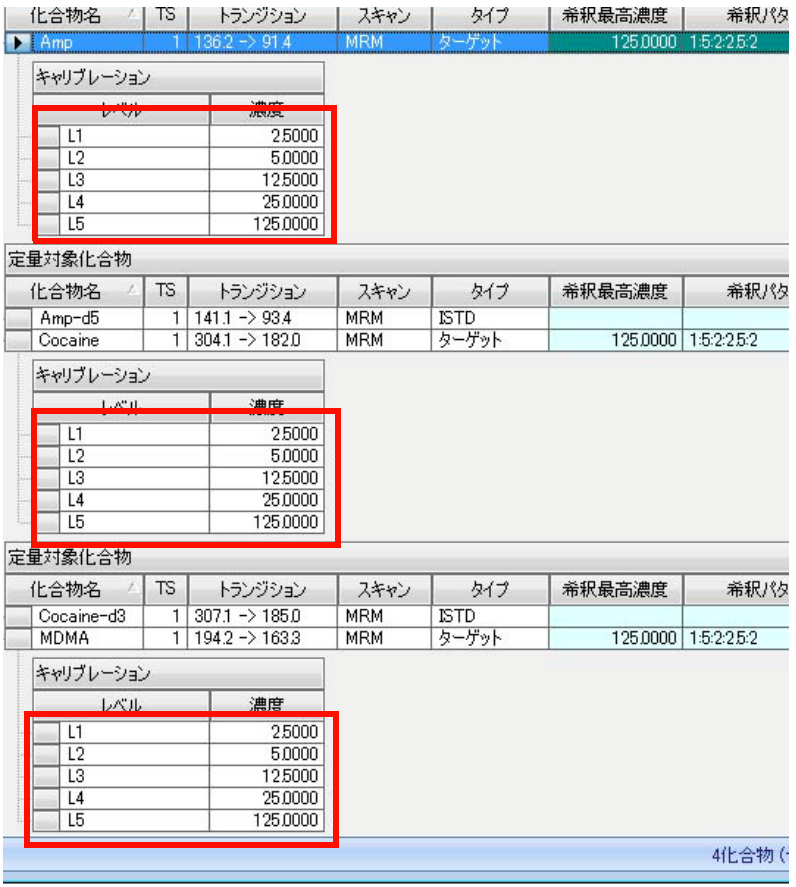
図 4 最初の化合物に 5 つのキャリブレーションレベルを作成

ステップ	詳細説明	コメント
	d [**レベルの作成**] をクリックします。 e 新たに作成されたキャリブレーションレベルを希釈最高濃度や希釈パターンと比較します。	• アンフェタミン（amphetamine）のキャリブレーションテーブルを作成後に、次のステップ 2 でこのテーブルを他のターゲット化合物にコピーします。

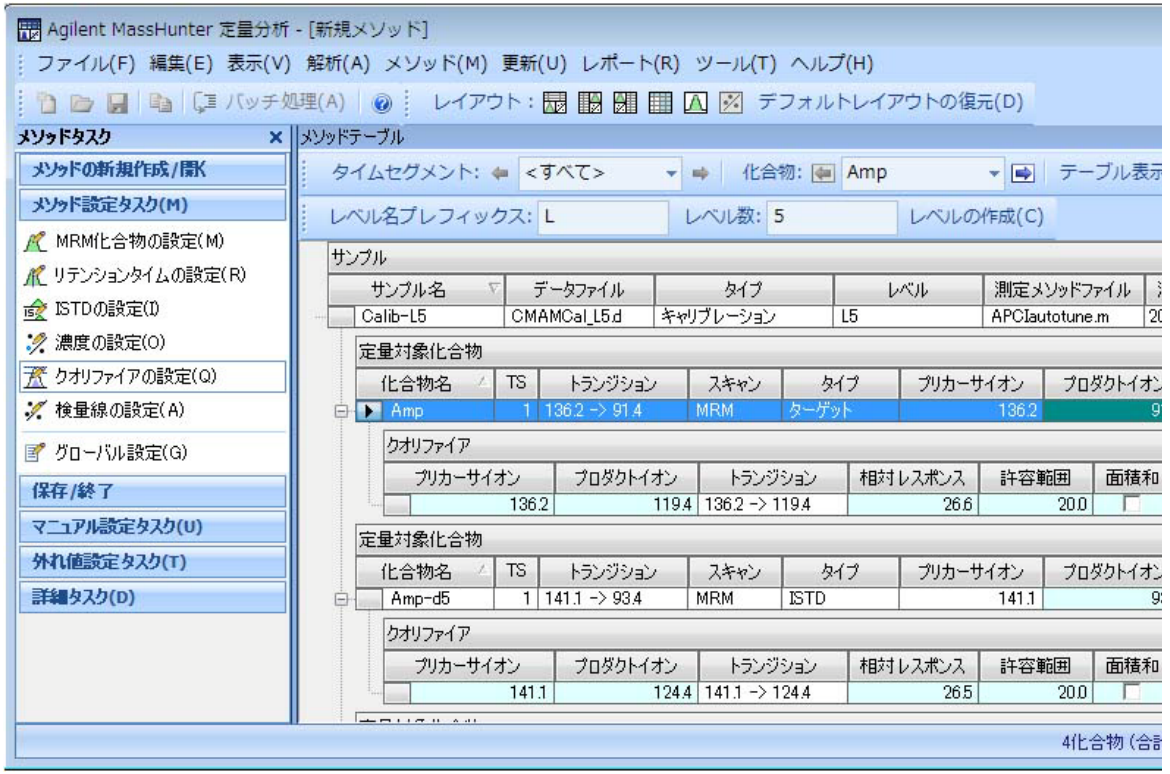
2 キャリブレーションレベルと濃度を他の化合物にコピーします。
- [**化合物情報**] ウィンドウを閉じます。
- 4 つの化合物のキャリブレーション設定を比較します。

a [**メソッド**] > [**キャリブレーションレベルのコピー**] をクリックします。[**キャリブレーションレベルのコピー**] ダイアログボックスが表示されます。
b [**すべて選択**] をクリックした後、[**OK**] をクリックします。

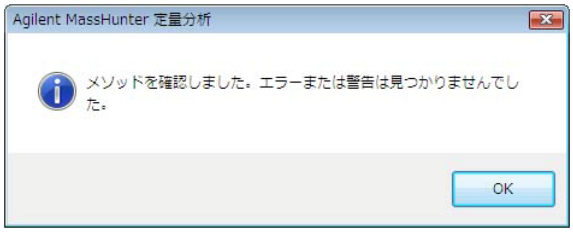
ステップ	詳細説明	コメント
	c 定量データ解析メインビューの下半分の [**化合物情報**] ウィンドウと [**サンプル情報**] ウィンドウを閉じます。 d [**メソッドテーブル**] を参照して、4 つのターゲット化合物（アンフェタミン（Amp）、コカイン（Cocaine）、メタンフェタミン（Meth）、MDMA）のキャリブレーション濃度設定を確認します。	



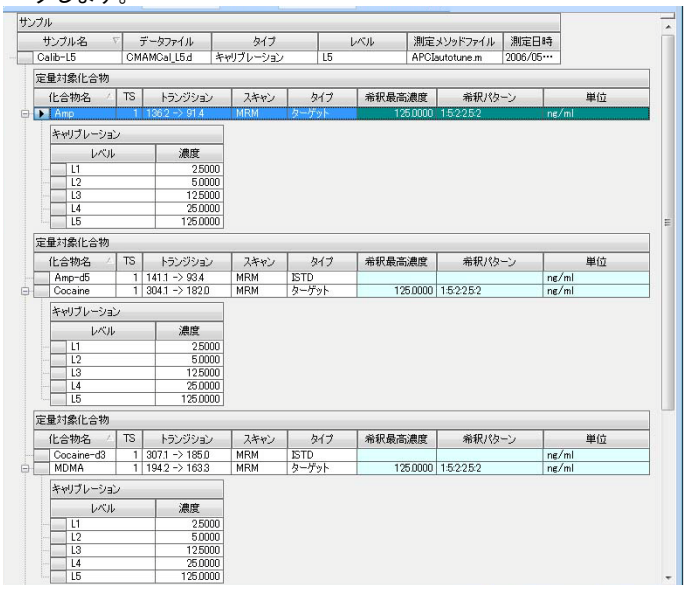
ステップ	詳細説明	コメント
3 クオリファイアイオンと検量線を設定します。 • クオリファイア設定パラメータをレビューします。 • デフォルトの検量線原点を無視から強制通過に変更します。	a [**メソッド設定タスク**] > [**クオリファイアの設定**] をクリックし、クオリファイア設定パラメータを確認します。	• クオリファイア設定パラメータは、MRM 測定情報をインポートした際に自動的に入力されます。 • メソッド作成時に、化合物の定量イオンに対する追加の MRM トランジションがクオリファイアイオンとして割り当てられます。



ステップ	詳細説明	コメント
	b [メソッド設定タスク] > [検量線の設定] をクリックします。 c 各ターゲット化合物に対して、[検量線原点] を [強制通過] に変更します。	

ステップ	詳細説明	コメント
4 メソッドを検証し、保存します。	a [保存/終了] > [バリデーション] をクリックし、メソッド設定を検証します。  b バリデーションメッセージが表示されたら、[OK] をクリックします。 c [保存/終了] > [終了] をクリックし、[このメソッドをバッチに適用しますか?] というメッセージで [はい] をクリックします。	• 画面下に、発生したバリデーションエラーが表示されます。

タスク 5. インテグレータの設定

ステップ	詳細説明	コメント
1 デフォルトのインテグレータを MS-MS に変更します。	**a** [**メソッド**] > [**編集**] をクリックするか、**F10** を押します。 **b** [**メソッド**] > [**詳細タスク**] **をクリックします。** **c** [**メソッドタスク**] ツールバーで、[**詳細タスク**] の [**積分パラメータの設定**] を選択します。 **d** [**メソッドテーブル**] で、[**インテグレータ**] 値の右側にあるボックスをクリックします。 	
	e [**積分**] ウィンドウで、ドロップダウンメニューから [**MS-MS**] を選択します。 **f** [**すべてに適用**] をクリックします。 **g** [**OK**] をクリックします。 **h** [**保存/終了**] > [**終了**] をクリックし、[**このメソッドをバッチに適用しますか?**] というメッセージで [**はい**] をクリックします。	

タスク 6. バッチの解析と保存

この実習では、バッチを自動的に定量させ、結果を保存します。

ステップ	詳細説明	コメント
1 バッチを解析し、各化合物の結果を確認します。 • 定量シグナルのないサンプルを識別した定量メッセージを調べます。 • 外れ値フラグメッセージを調べます。	a ツールバーの [**バッチ処理**] アイコン バッチ処理(A) をクリックし、バッチ解析を開始します。 b Sample-1 の定量メッセージの上にカーソルを動かします。 c 最初の 2 つのキャリブレーションサンプルのフラグの上にカーソルを動かします。	• プログラムにより、Sample-1 の中にアンフェタミン（Amp）が検出されなかったことを確認してください。 • 2 つのキャリブレーションサンプルには外れ値データが含まれていることを確認してください。

2 バッチを保存します。	a [**ファイル**] > [**バッチを保存**] をクリックします。 b [**ファイル**]> [**バッチを閉じる**] をクリックし、バッチを閉じます。	

実習 2
測定した Q-TOF データファイルを使用したバッチの設定と定量

タスク 1. 新規バッチの作成　31
タスク 2. バッチに新規メソッドを設定する　34
タスク 3. ターゲット化合物の設定　37
タスク 4. 定量の設定　39
タスク 5. バッチの解析と保存　43

この実習では測定した Q-TOF データファイルを使用して定量メソッドを設定します。インストールディスクの **Verapamil** データファイルを用いて実習を行い、以下のタスクの実施方法を学習します。

- ブランクのデータファイルとベラパミル（verapamil）用キャリブレーションデータファイルを含むバッチテーブルの設定。
- 最高濃度キャリブレーション標準サンプルに基づく新規定量メソッドの設定。
- ターゲット化合物の設定。
  - データファイル中のベラパミル（verapamil）化合物のプロダクトイオンとクロマトグラフパラメータの表示。
- メソッドの定量データベースの設定。
  - 最高濃度の検量線用標準サンプル濃度および希釈パターンの入力。
  - クオリファイアイオンと検量線の設定。
- バッチの自動定量および結果の保存。

実習方法を示す表は、以下の 3 列に分けて表示されています。

- ステップ - 操作概要です。各自でプログラムを実行します。
- 詳細説明 - ステップの実行に必要な手順を示しています。
- コメント - 実習の各ステップに関するヒントや追加情報を記します。

始める前に...

インストールディスクの **Data/QTOF** フォルダからご使用のシステムのフォルダに、**Verapamil-targetedMSMS** フォルダがコピーされていることを確認します。

タスク 1. 新規バッチの作成

このタスクでは、ベラパミル（verapamil）のキャリブレーションサンプル用データファイルを含むバッチテーブルを作成します。このセクションのタスクの多くは、実習 1 のタスクと似ています。

ステップ	詳細説明	コメント
1 サンプルを登録する新規バッチを作成します。 • **Verapamil-targetedMSMS** フォルダからすべてのデータファイルを選択します。 • バッチファイルに **iii_test_01** という名前を付けます。ここで、「iii」はユーザーのイニシャルです。	a 定量分析プログラムを起動するには、デスクトップの **[Q-TOF 定量分析]** アイコン をクリックします。プログラムを初めて使用する場合、図 5 のようにデフォルトレイアウトが表示されます。	• [スタート] メニューから **[すべてのプログラム] > [Agilent] > [MassHunter Workstation] > [定量分析（Q-TOF）]** をクリックしてプログラムにアクセスすることもできます。

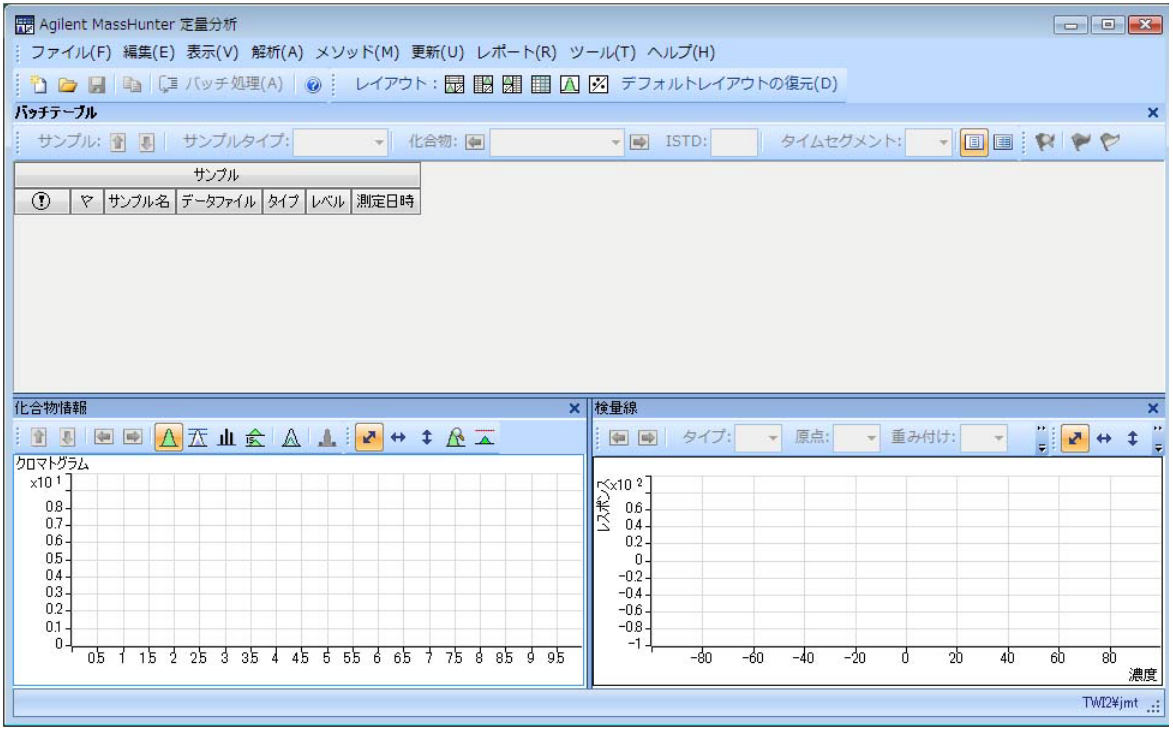


図 5　デフォルトレイアウト

ステップ	詳細説明	コメント
	b [**ファイル**] > [**新規バッチ**] をクリックします。[**新規バッチ**] ダイアログボックスが開きます。 c フォルダ **\Your Directory \Verapamil-targetedMSMS** に移動します。 d バッチファイル名として「**iii_Test_01**」を入力し、[**開く**] をクリックします。	• デフォルトレイアウトが表示されない場合、新規バッチを作成する前にツールバーの [**デフォルトレイアウトの復元**] をクリックします。
2 **Verapamil** フォルダ内のすべてのサンプルをバッチに追加します。	a [**ファイル**] > [**サンプルの追加**] をクリックします。 [**サンプルの追加**] ダイアログボックスが表示されます。 b [**すべて選択**] をクリックしてすべてのサンプルを選択し、[**OK**] をクリックしてそれらをバッチに追加します。 これで、[**バッチテーブル**] は空ではなくなります。この段階で、キャリブレーションサンプルとブランクサンプルがバッチに含まれます。図 6 を参照してください。 	• 5 つのファイルはブランク、残りのファイルはすべて異なるレベルのキャリブレーションサンプルであることに注目してください。

ステップ	詳細説明	コメント

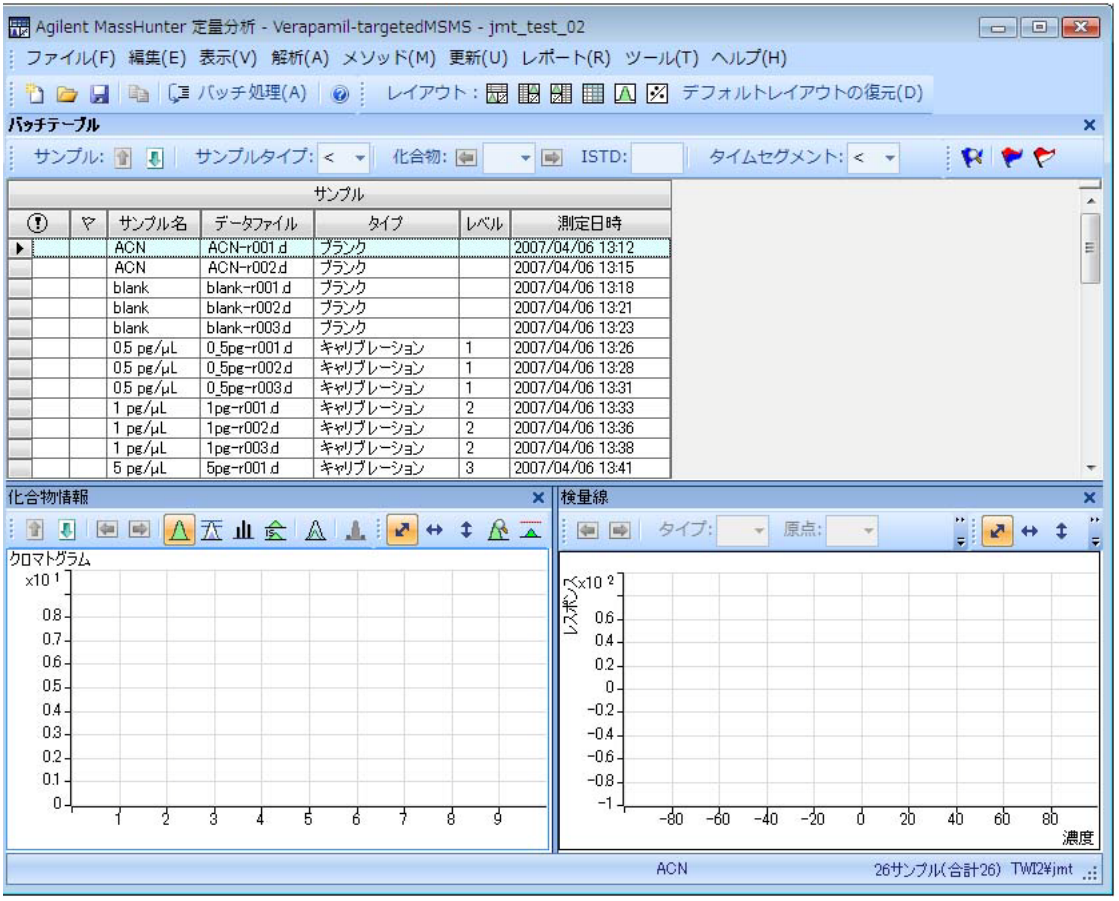


図 6　定量前のベラパミル（Verapamil）サンプルのバッチテーブル

タスク 2. バッチに新規メソッドを設定する

このタスクでは、最も高濃度のキャリブレーションサンプルのデータファイルに基づき、新規の定量用メソッドを設定する方法を示します。

ステップ	詳細説明	コメント
1 測定した Q-TOF データから新規メソッドを作成します。 • 最もシグナル強度の高い検量線用データファイルを使用します。	**a** カーソルを用いて、下図のように濃度レベルの最も高いキャリブレーションサンプルを強調表示させます。	• 高濃度キャリブレーションサンプル等の、化合物に対してシグナル強度の高いサンプルを用いることで、適正なリテンションタイムとクオリファイア比がメソッドへ設定されるようにします。

バッチテーブル

サンプル: サンプルタイプ: < 化合物:

サンプル

		サンプル名	データファイル	タイプ	レベル	
		25 pg/µL	25pg-r001.d	キャリブレーション	4	200
		25 pg/µL	25pg-r002.d	キャリブレーション	4	200
		25 pg/µL	25pg-r003.d	キャリブレーション	4	200
		125 pg/µL	125pg-r001.d	キャリブレーション	5	200
		125 pg/µL	125pg-r002.d	キャリブレーション	5	200
		125 pg/µL	125pg-r003.d	キャリブレーション	5	200
		625 pg/µL	625pg-r001.d	キャリブレーション	6	200
		625 pg/µL	625pg-r002.d	キャリブレーション	6	200
		625 pg/µL	625pg-r003.d	キャリブレーション	6	200
▶		1000 pg/µL	1000pg-r001.d	キャリブレーション	7	200
		1000 pg/µL	1000pg-r002.d	キャリブレーション	7	200
		1000 pg/µL	1000pg-r003.d	キャリブレーション	7	200

	b [**メソッド**] > [**編集**] をクリックし、メソッド編集モードに切り替えます。 [**メソッドタスク**] が、図 7 のようにビューの左側に表示されます。	• 図 7 はメソッド編集のデフォルトレイアウトを示しています。 • デフォルトレイアウトが表示されない場合、次のステップで新規メソッドを作成する前にツールバーの「**デフォルトレイアウトの復元**] をクリックします。 デフォルトレイアウトの復元(D)

ステップ	詳細説明	コメント

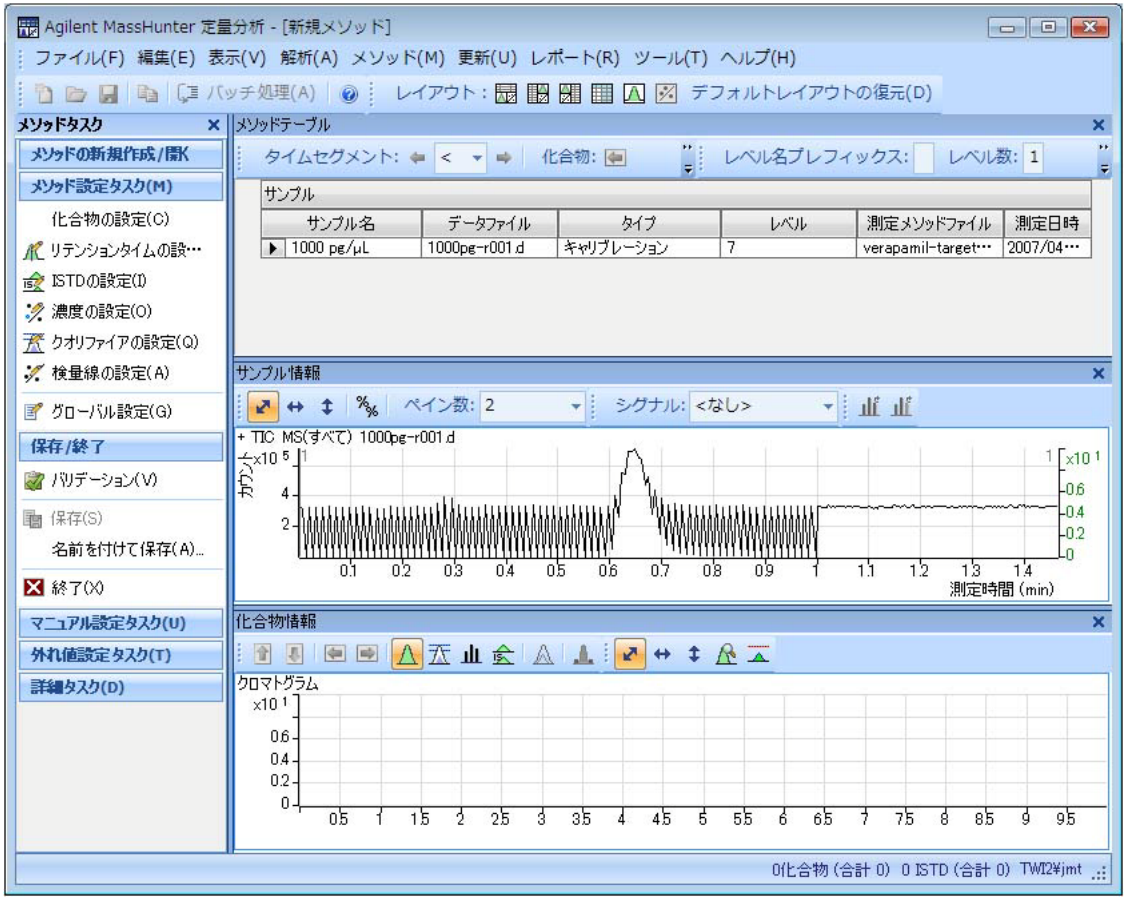
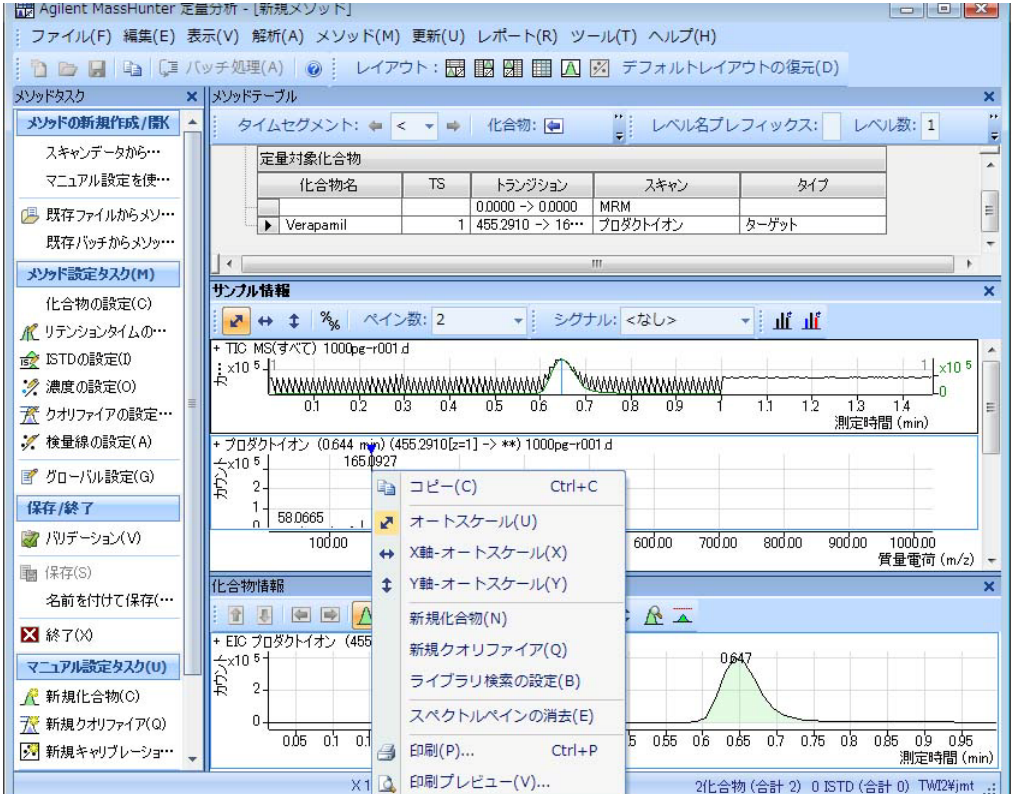


図 7　メソッド編集モード

ステップ	詳細説明	コメント
	c [**サンプル情報**] ウィンドウで、ピークの中央をクリックします。右クリックし、[**スペクトルの抽出**] をクリックします。 • スペクトル「+プロダクトイオン（0.644 min）（455.2910 [z=1] ->**）」が表示されます。 d 最大イオン、165.0927 をクリックします。その場所を右クリックし、[**新規化合物**] をクリックします。 e [**メソッドテーブル**] の [**化合物名**] に「Verapamil」と入力します。	• 下図では、化合物をメソッドに追加する際に使用する [**サンプル情報**] ウィンドウのショートカットメニューを表示しています。

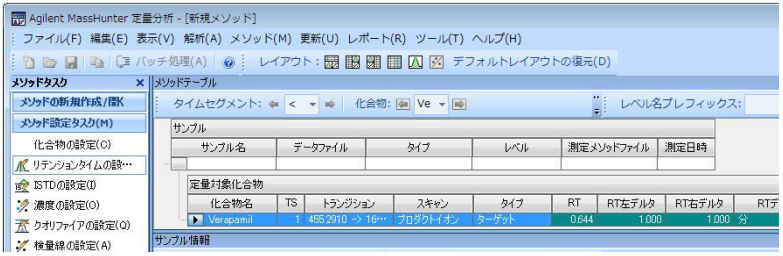


タスク 3. ターゲット化合物の設定

このタスクを用いて、個々のターゲット化合物に対して変更可能な、新規定量メソッドのプロダクトイオンとリテンションタイムの確認方法を学習します。

ステップ	詳細説明	コメント
1 [**サンプル情報**] ウィンドウから作成したプロダクトイオンの新規定量メソッドを確認します。	a [**メソッドテーブル**] の左側のサイドバーの [**メソッドタスク**] で、[**メソッド設定タスク**] > [**化合物の設定**] をクリックします。	

ステップ	詳細説明	コメント
	b スペクトルから設定されたリテンションタイムを確認するには、[**メソッド設定タスク**] > [**リテンションタイムの設定**] をクリックします。	• 各化合物の水色のデータフィールドは変更することが可能です。

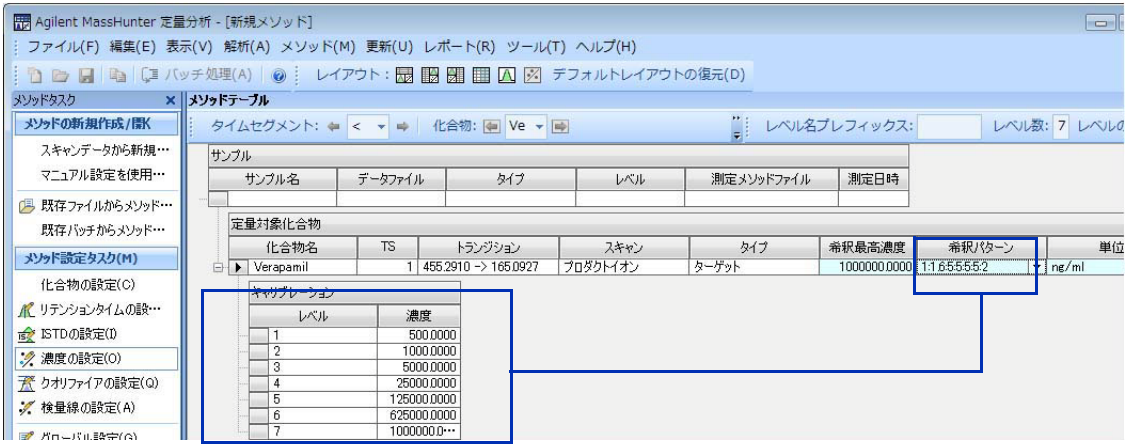


タスク 4. 定量の設定

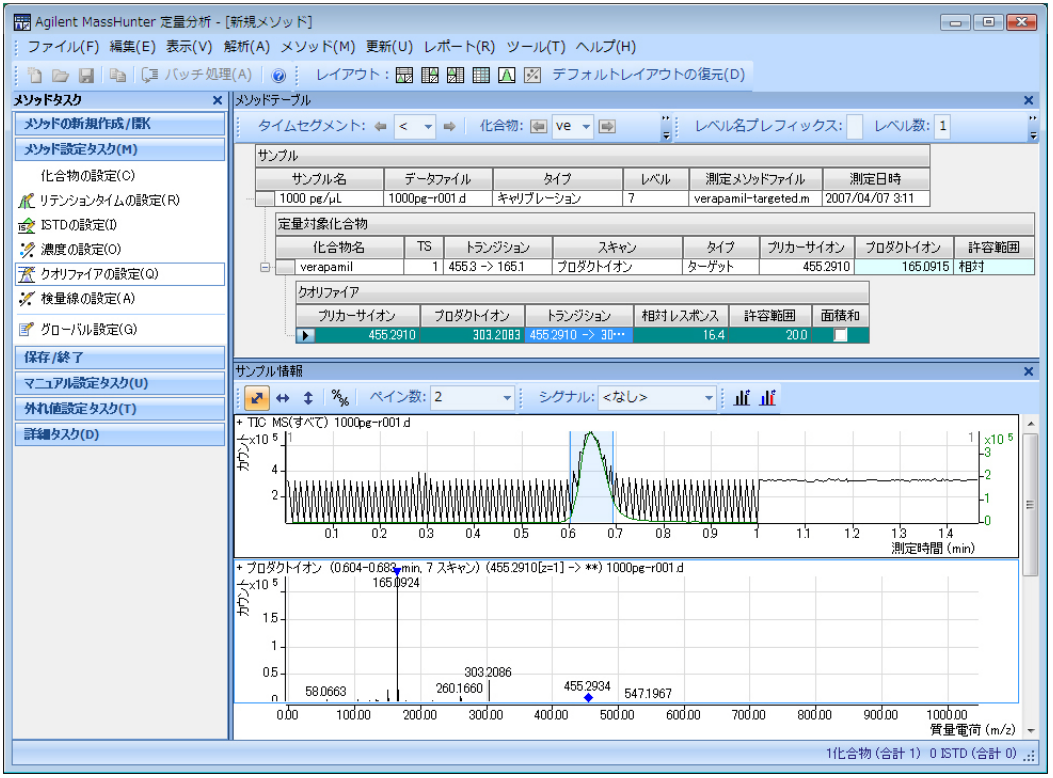
このタスクでは、以下の定量パラメータをメソッドに設定する方法について説明します。

- キャリブレーションレベル
- クオリファイアイオン
- 検量線のカーブフィット

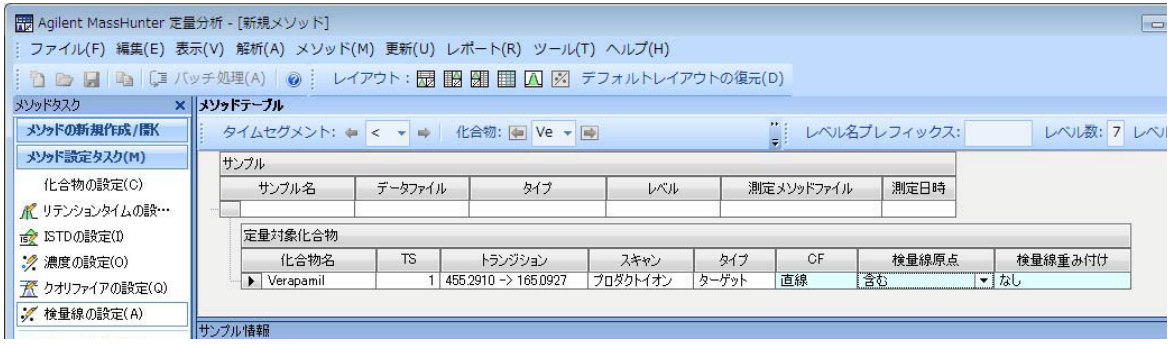
ステップ	詳細説明	コメント
1 各化合物に対して 5 つのキャリブレーションレベルを作成します。 • ベラパミル（Verapamil）の最高濃度を 125 に設定します。 • ベラパミル（Verapamil）に対して、1:1.6:5:5:5:5:2 の希釈パターンを設定します。 • 7 つのレベルの濃度を希釈パターンと比較します。	**a** [**メソッド設定タスク**] > [**濃度設定**] をクリックし、ベラパミル（Verapamil）の [**希釈最高濃度**] 列に「1000.000」と入力します。 **b** ベラパミル（Verapamil）の [**希釈パターン**] 列に「1:1.6:5:5:5:5:2」と入力します。 **c** [**連続希釈法**] ツールバーの [**レベル名プレフィックス**] を空欄にし、[**レベル数**] には「**7**」を入力します。	
	d [**レベルの作成**] をクリックします。 **e** 新たに作成されたキャリブレーションレベルを希釈最高濃度や希釈パターンと比較します。	

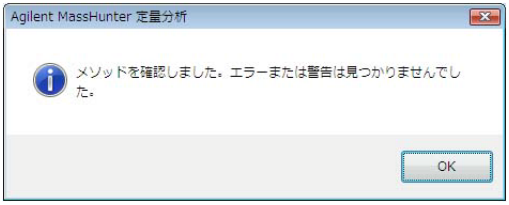


ステップ	詳細説明	コメント
2 クオリファイアイオンと検量線を設定します。 • クオリファイア設定パラメータをレビューします。 • [**検量線原点**] を [**含む**] に変更します。	**a** [**サンプル情報**] ウィンドウのスペクトル「+ プロダクトイオン（0.644 min）（455.2910 [z=1] -> **）1000 pg-r001.d」を選択します。 **b** イオン 303.2083 をクリックします。その場所を右クリックし、[**新規クオリファイア**] をクリックします。	• 複数のクオリファイアイオンを選択できます。 • 青色の三角形は、スペクトルで選択している m/z を示します。 • [**検量線原点**] 列を追加するには、[定量対象化合物テーブル] を右クリックし、[**列の追加**] > [**検量線原点**] を選択します。



ステップ	詳細説明	コメント
	c [**メソッドタスク**] > [**検量線の設定**] をクリックします。 **d** ベラパミル（Verapamil）化合物の、[**検量線原点**] を [**含む**] に変更します。	



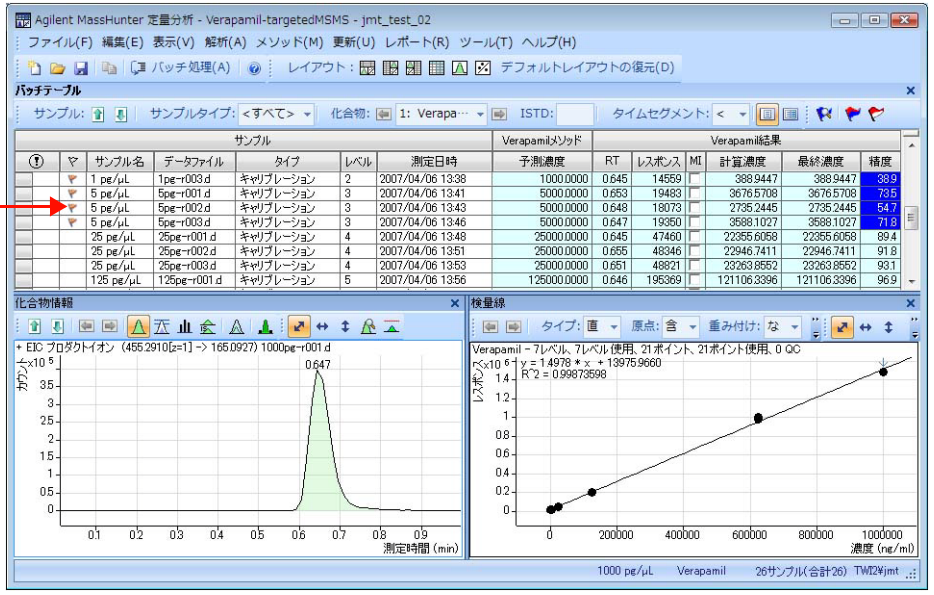
ステップ	詳細説明	コメント
3 メソッドを検証し、保存します。	a [保存 / 終了] > [バリデーション] をクリックし、メソッド設定を検証します。  b バリデーションメッセージが表示されたら、[OK] をクリックします。 c [保存 / 終了] > [終了] をクリックし、[このメソッドをバッチに適用しますか?] というメッセージで [はい] をクリックします。	• 画面下に、発生したバリデーションエラーが表示されます。

タスク 5. バッチの解析と保存

この実習では、バッチを自動的に定量させ、結果を保存します。

ステップ	詳細説明	コメント
1 バッチを解析し、各化合物の結果を確認します。 • 定量シグナルのないサンプルを識別した定量メッセージを調べます。 • 外れ値フラグメッセージを調べます。	a ツールバーの [**バッチ処理**] アイコン バッチ処理(A) をクリックし、バッチ解析を開始します。 b 最初の 2 つのキャリブレーションサンプルのフラグの上にカーソルを動かします。	• 3 つのキャリブレーションサンプルの**精度**に、外れ値フラグがあることを確認してください。
2 バッチを保存します。	a [**ファイル**] > [**バッチを保存**] をクリックします。 b [**ファイル**]> [**バッチを閉じる**] をクリックし、バッチを閉じます。	

外れ値
フラグメッセージ



実習 3
定量結果のレビュー

タスク 1. バッチテーブル結果のナビゲーション 46
タスク 2. 結果ウィンドウレイアウトの変更 51
タスク 3. 結果のエクスポートと印刷 58

この実習のタスクでは、バッチファイル内のサンプルと化合物データの検査、結果レイアウトのカスタマイズ、データの Microsoft Excel へのエクスポート、データのプレビューと印刷方法などを示します。

この実習では、**DrugsOfAbuse** バッチを使用します。トリプル四重極データファイル、Q-TOF データファイル、TOF データファイルを用いて同じタスクを実行できます。

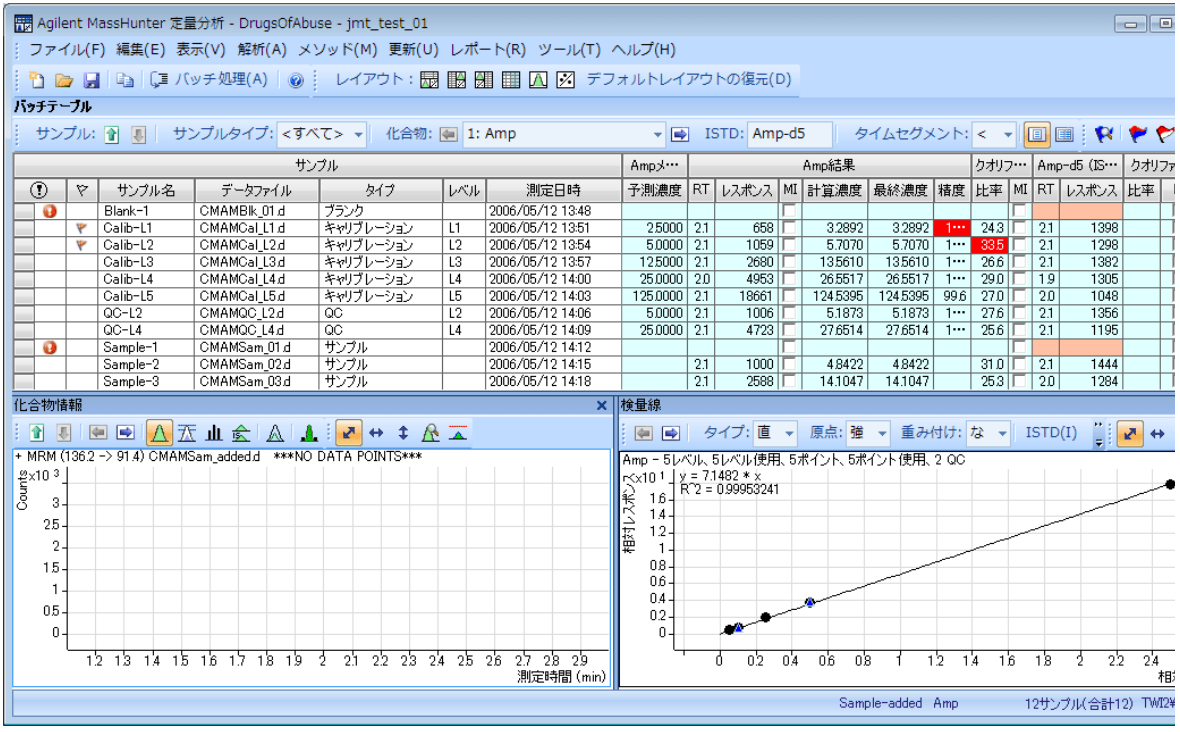
実習方法を示す表は、以下の 3 列に分けて表示されています。

- ステップ - 操作概要です。各自でプログラムを実行します。
- 詳細説明 - ステップの実行に必要な手順を示しています。
- コメント - 実習の各ステップに関するヒントや追加情報を記します。

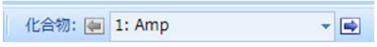
タスク 1. バッチテーブル結果のナビゲーション

このタスクでは、ご使用のサンプルと化合物の最初から最後までスクロールして、[バッチテーブル] と [化合物情報] のデータの変化を観察する方法を示します。また、さまざまなサンプルタイプの表示方法を示します。

ステップ	詳細説明	コメント
1 実習 2 で作成したバッチファイル **iii_Test_01.batch.xml** を開きます。	**a** デスクトップの [**定量分析**] アイコン をクリックしてプログラムを起動します。 **b** ツールバーの [**バッチを開く**] をクリックし、[**バッチを開く**] ダイアログボックスを表示します。 **c** **\Your Directory\DrugsOfAbuse** に移動し、**iii_Test_01.batch.xml** をクリックします。	• 表示されるメインのビューは、下記のようになります。この図はデフォルトの列が設定されているデフォルトレイアウトです。



ステップ	詳細説明	コメント
2 （オプション）前ページの図と異なるレイアウトが表示される場合、 • メインビューに 2 つ以下のウィンドウしか表示されない場合や異なる配置の場合、デフォルトレイアウトを復元します。 • 列設定が違う場合、デフォルトの列設定を復元します。 • クロマトグラムペイン以外のペインが [**化合物情報**] ウィンドウに表示される場合、他のペインを非表示にします。	• デフォルトレイアウトを復元するには、サンプルをスクロールする前に、ツールバーの **[デフォルトレイアウトの復元]** をクリックします。 • デフォルト列設定を復元するには、[**バッチテーブル**] ウィンドウのどこかを右クリックし、[**デフォルト列の復元**] をクリックします。 • 余分なペインを非表示にするには、[化合物情報] ツールバーの [クロマトグラムの表示/非表示] アイコン のみが強調表示されるよう、その他のアイコンをクリックして非表示にします。	• デフォルトレイアウトは工場出荷時に設定され、変更できません。独自のレイアウトを作成する方法は、51 ページの「タスク 2. 結果ウィンドウレイアウトの変更」を参照してください。
3 [**バッチテーブル**] の最後に達するまでサンプルをスクロールした後、Cal-L5 に戻ります。 • ツールバーの [次のサンプル] と [前のサンプル] の矢印 を使用します。 • 各サンプルのアンフェタミン（amphetamine）の [**バッチテーブル**] と [**化合物情報**] の変化に注目してください。 • [**バッチテーブル**] のサンプル [**Calib_L4**] を選択し、[**バッチテーブル**] と [**化合物情報**] の変化を表示します。	**a** 希望するサンプルが表示されるまで、[バッチテーブル] ツールバーの **[次のサンプル]** 矢印 をクリックします。[**化合物情報**] ウィンドウの変化を確認します。 **b** Cal-L5 に戻るには、[バッチテーブル] ツールバーの [**前のサンプル**] アイコン をクリックします。 **c** [**バッチテーブル**] ウィンドウでサンプル **Calib_L4** の行の任意のセルをクリックし、変化を表示します。	• [**バッチテーブル**] で強調表示されたデータファイルと [**化合物情報**] ウィンドウのクロマトグラムがリンクされていることを確認してください。

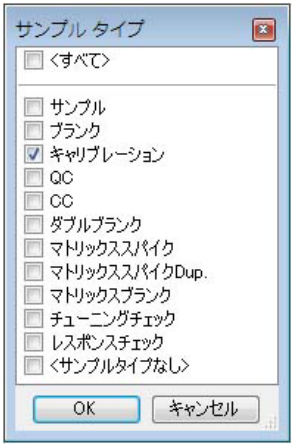
ステップ	詳細説明	コメント
4 4 つのすべての化合物をスクロールします。 • ツールバーの [次の化合物] と [前の化合物] の矢印を使用します。  • 化合物間での [**バッチテーブル**]、[**化合物情報**]、[**検量線**] ウィンドウの違いをレビューします。 • リストから [**Cocaine**] を選択します。	**a** 希望する化合物が表示されるまで、ツールバーの [**次の化合物**] または [**前の化合物**] 矢印をクリックします。 **b** [**バッチテーブル**] ウィンドウ、[**化合物情報**] ウィンドウ、および [**検量線**] ウィンドウの変化を確認します。 **c** [**化合物名**] リストの隣の下矢印をクリックします。 **d** [**Cocaine**] をクリックします。	

ステップ	詳細説明	コメント
5 複数の化合物の結果を調べます。 • Cal-L4　サンプルの各化合物のリテンションタイムを表示します。 • すべての化合物の結果をレビューした後、コカイン（cocaine）の結果の表示に戻ります。	**a** ツールバーの [**複数の化合物 / サンプルを表示**] アイコン をクリックし、すべてのターゲット化合物の定量結果を表示します。[**表示**] > [**バッチテーブルレイアウト**] > [**複数の化合物 / サンプルを表示**] メニューも使用できます。 **b** [Cal-L4] セルをクリックし、各化合物の [**化合物情報**] ウィンドウの [**RT**] の差に注目します。	[1 つの化合物を表示] モードと [複数の化合物 / サンプルを表示] モードでは、異なる列が表示されます。[複数の化合物 / サンプルを表示] モードのテーブルに列を追加しても、その変更内容は [1 つの化合物 / サンプルを表示] モードには自動的に適用されません。

サンプル							Amp結果			Meth結果			MDMA結果			Cocaine結果		
	サンプル名	データファイル	タイプ	レベル	測定日時	RT	最終濃度	精度	RT	最終濃度	精度	RT	最終濃度	精度	RT	最終濃度	精度
	Blank-1	CMAMBlk_01.d	ブランク		2006/05/12 13:48				1.338	9.8674		2.466	7.1863		2.433	11.8257	
	Calib-L1	CMAMCal_L1.d	キャリブレーション	L1	2006/05/12 13:51	2.1	3.2892	131.6	2.247	2.5935	103.7	2.276	2.2841	91.4	2.453	2.3071	92.3
	Calib-L2	CMAMCal_L2.d	キャリブレーション	L2	2006/05/12 13:54	2.1	5.7070	114.1	2.248	5.0785	101.6	2.277	4.6564	93.1	2.454	4.2642	85.3
	Calib-L3	CMAMCal_L3.d	キャリブレーション	L3	2006/05/12 13:57	2.1	13.5610	108.5	2.247	15.1411	121.1	2.277	11.2840	90.3	2.459	11.5485	92.4
	Calib-L4	CMAMCal_L4.d	キャリブレーション	L4	2006/05/12 14:00	2.0	26.5517	106.2	2.228	27.1962	108.8	2.264	24.9231	99.7	2.449	25.2489	101.0
	Calib-L5	CMAMCal_L5.d	キャリブレーション	L5	2006/05/12 14:03	2.1	124.5395	99.6	2.237	124.2916	99.4	2.271	125.1550	100.1	2.448	125.0787	100.1
	QC-L2	CMAMQC_L2.d	QC	L2	2006/05/12 14:06	2.1	5.1873	103.7	2.248	5.2313	104.6	2.276	4.8686	97.4	2.453	4.2813	85.6
	QC-L4	CMAMQC_L4.d	QC	L4	2006/05/12 14:09	2.1	27.6514	110.6	2.246	27.7396	111.0	2.276	23.0488	92.2	2.455	24.5474	98.2
	Sample-1	CMAMSam_01.d	サンプル		2006/05/12 14:12				2.474	3.6177		2.315	5.6272				
	Sample-2	CMAMSam_02.d	サンプル		2006/05/12 14:15	2.1	4.8422		2.250	5.7917		2.280	5.1811		2.460	4.3755	
	Sample-3	CMAMSam_03.d	サンプル		2006/05/12 14:18	2.1	14.1047		2.236	14.1504		2.267	10.7917		2.446	10.9430	

c 選択したターゲット化合物の詳細定量結果の表示に戻るには、ツールバーの [**1 つの化合物 / サンプルを表示**] アイコン をクリックします。

d 必要なら、[**化合物**] リスト隣の下矢印をクリックし、[**Cocaine**] をクリックします。

ステップ	詳細説明	コメント
6 選択したサンプルタイプを表示します。 • キャリブレーションサンプルのみを表示します。 • 次に、すべてのサンプルタイプを表示します。	**a** **[サンプルタイプ]** ドロップダウンリストの下矢印をクリックします。[**サンプルタイプ**] ダイアログボックスが表示されます。 **b** [**<すべて>**] チェックボックスをオフにし、[**キャリブレーション**] チェックボックスをオンにします。  **c** **[OK]** をクリックします。 [**バッチテーブル**] には、コカイン（cocaine）の**キャリブレーション**サンプルのみが表示されます。 **d** **[サンプルタイプ]** ドロップダウンリストの下矢印をクリックします。 **e** [**<すべて>**] をクリックした後、**[OK]** をクリックします。 自動的にすべてのチェックボックスがオンになり、すべてのサンプルタイプが表示されます。	

タスク 2. 結果ウィンドウレイアウトの変更

このタスクでは、ツールバーアイコンを用いてレイアウトをカスタマイズする方法とデフォルトレイアウトの再作成方法を示します。

ステップ	詳細説明	コメント
1 ツールバーのレイアウトアイコンを使用し、[**バッチテーブル**] ウィンドウ、[**化合物情報**] ウィンドウ、および [**検量線**] ウィンドウの位置を合わせます。 • [バッチテーブル] がメインビューの上に位置するため、デフォルトレイアウトは [テーブル上] と呼ばれます。 • レイアウトを［テーブル左］に、その後［テーブル右］に変更します。 • ［テーブル上］レイアウトに戻します。	**a** ツールバーの [**レイアウト - テーブル左**] アイコン をクリックします。 **b** ツールバーの [**レイアウト - テーブル右**] アイコン をクリックします。 **c** [**レイアウト - テーブル上**] アイコン をクリックします。	
2 ツールバーのレイアウトアイコンを使用し、個々のウィンドウを最大化します。 • テーブル • 化合物情報 • 検量線 • デフォルトレイアウトに戻る	**a** ツールバーの［**テーブルの最大化**］アイコン をクリックします。 **b** ツールバーの[**化合物情報の最大化**]アイコン をクリックします。 **c** ツールバーの［**検量線の最大化**］アイコン をクリックします。 **d** デフォルトレイアウトに戻るには、ツールバーの［**デフォルトレイアウトの復元**］アイコンをクリックします。	
3 Cal-L4 の [**化合物情報**] ウィンドウのペインを変更します。 • クオリファイアの表示 • スペクトルの表示 • ISTD クロマトグラム、クオリファイア、スペクトルの表示	**a** [**バッチテーブル**] で、[Cal-L4] 行を選択します。 **b** [化合物情報] ツールバーで、[**クオリファイアの表示 / 非表示**] アイコン をクリックします。 **c** [**スペクトルの表示 / 非表示**] アイコン をクリックします。 **d** [**ISTD の表示 / 非表示**] アイコン をクリックします。 レイアウトと結果は、次ページの図のようになります。	• このステップでは、[**化合物情報**] ウィンドウのクロマトグラムペインだけが表示されている状態からタスクを開始してください。 • これらの変更は、6 つのペインの配置と表示のみを変更します。[**化合物情報**] ウィンドウのペインは、レイアウトを変更しても影響を受けません。

ステップ	詳細説明	コメント

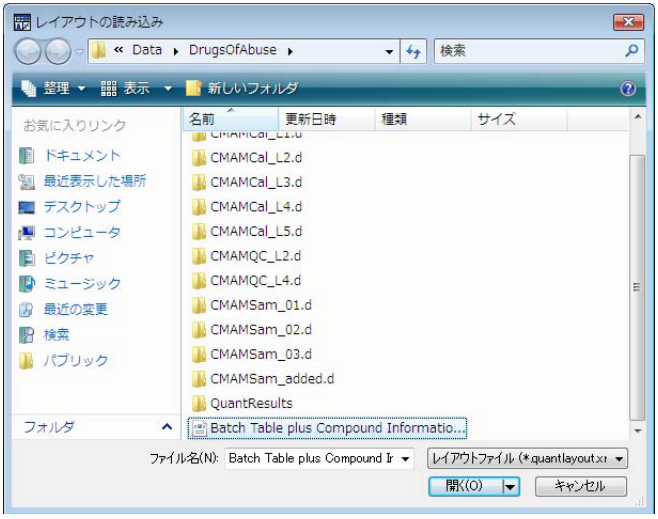
4 検量線なしでデフォルトレイアウトを保存します。

- 新しいレイアウトを **Batch Table plus Compound Information** として **DrugsOfAbuse** フォルダに保存します。

a **[検量線]** ウィンドウを閉じます。

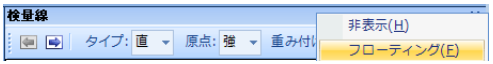
b **[表示]** > **[ウィンドウレイアウト]** > **[レイアウトの保存]** をクリックします。**[レイアウトファイルの保存]** ダイアログボックスが表示されます。

c ファイル名に「**Batch Table plus Compound Information**」と入力し、**[保存]** をクリックします。

ステップ	詳細説明	コメント
5 新たに作成したレイアウトを読み込みます。 • デフォルトレイアウトを復元します。 • レイアウト **Batch Table plus Compound Information** を読み込みます。	**a** ツールバーの［**デフォルトレイアウトの復元**］をクリックします。 **b** ［**表示**］>［**ウィンドウレイアウト**］>［**レイアウトの読み込み**］をクリックします。 ［**レイアウトの読み込み**］ダイアログボックスが表示されます。  **c** **Batch Table plus Compound Information** を選択し、［**開く**］をクリックします。 結果のウィンドウは、図 8 のようになります。	

ステップ	詳細説明	コメント

図 8 結果のウィンドウ

ステップ	詳細説明	コメント
6 55 ページの図 9 のように、[**検量線**] ウィンドウと [**化合物情報**] ウィンドウのフローティングを用いて、レイアウトを作成します。 ヒント：[**バッチテーブル**] は、左に配置します。	**a** デフォルトレイアウトを復元します（ツールバーの［**デフォルトレイアウトの復元**］をクリックします）。 **b** [**検量線**] ウィンドウのタイトルバー内を右クリックした後、[**フローティング**] チェックボックスをオンにします。  **c** ［**化合物情報**］ ウィンドウのタイトルバーを右クリックし、[**フローティング**] チェックボックスをクリックしてオンにします。 **d** ウィンドウのサイズを変更し、図 9 のレイアウトに合わせます。	

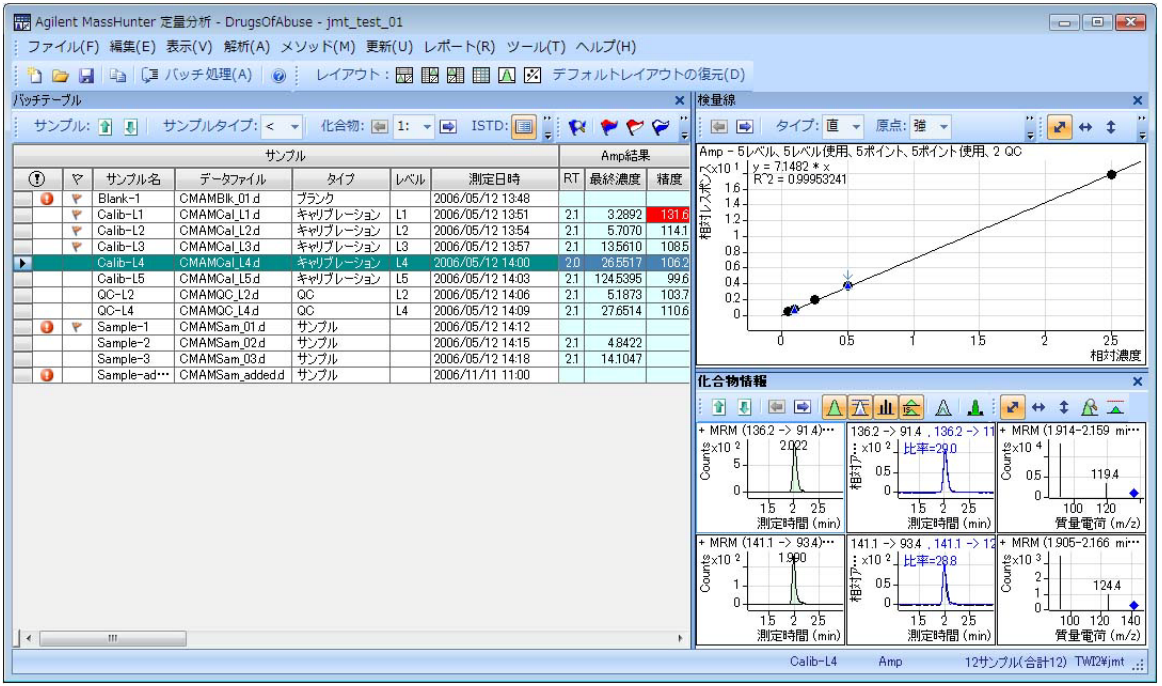


図 9　検量線と化合物情報ウィンドウ - フローティングを用いた表示

ステップ	詳細説明	コメント
	e [**化合物情報**] ウィンドウのタイトルバー内を右クリックした後、[**フローティング**] チェックボックスの選択を解除します。 f ウィンドウのサイズを変更し、図 10 のレイアウトに合わせます。	

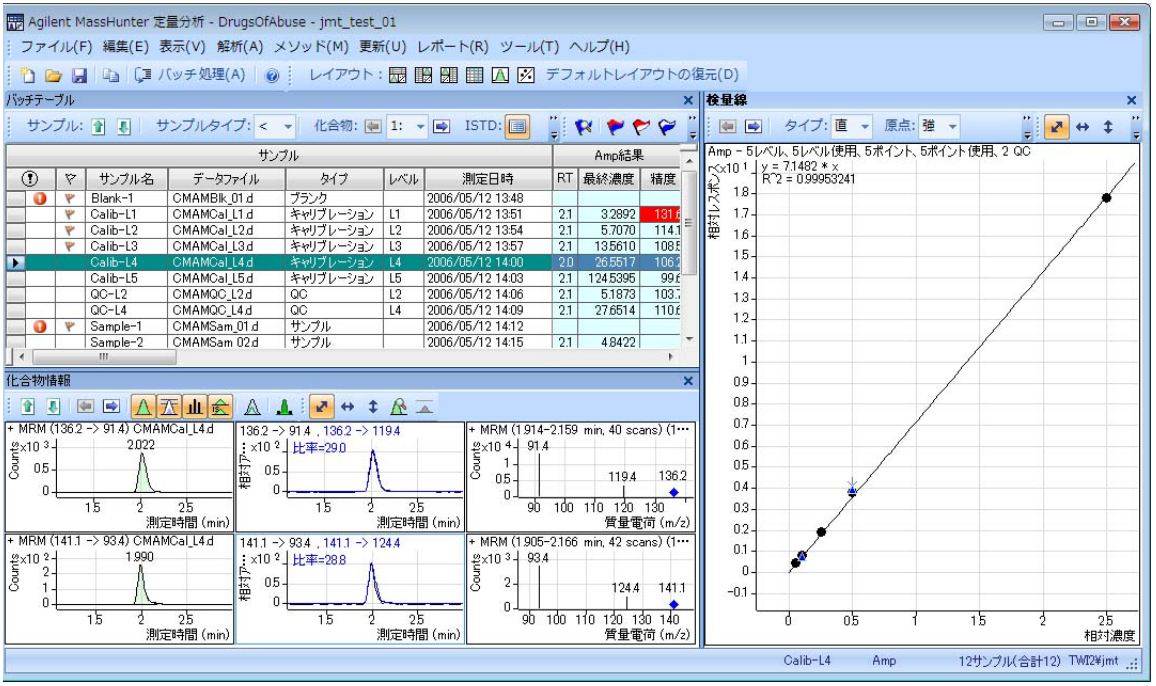


図 10 サイズ変更したウィンドウ

	g [**検量線**] ウィンドウのタイトルバー内を右クリックした後、[**フローティング**] チェックボックスをオフにします。 h タスク開始時に示したレイアウトと一致するように、[**化合物情報**] ウィンドウを移動します。	

ステップ	詳細説明	コメント
7 デフォルトレイアウトを再作成します（復元ではない）。 • このステップでは、レイアウトアイコンまたは [**デフォルトレイアウトの復元**] を用いずに、レイアウトの再作成方法を学習します。	**a** プログラムのメインビューを最大化します。	• まず [**検量線**] ウィンドウを固定した後、[**化合物情報**] ウィンドウを固定し、デフォルトレイアウトを再作成します。 • 2 つのウィンドウの固定後、検量線が左側にある場合、[**検量線**] ウィンドウのタイトルバーを右クリックし、右にドラッグします。このウィンドウがメインビュー内に置かれる場所を示す灰色の長方形が描かれます。メインビュー右下隅に［検量線］ウィンドウをドラッグします。

タスク 3. 結果のエクスポートと印刷

この練習では、Microsoft Excel ファイルにデータをエクスポートする方法と、[バッチテーブル] と [化合物情報] データのプレビューおよび印刷方法を示します。

ステップ	詳細説明	コメント
1 バッチファイル **iii_Test_01** をエクスポートします。 • 出力先ディレクトリとしてフォルダを指定します。 • エクスポートファイル名として **iii_Test_01.xls** を使用します。ここで、「iii」はユーザーのイニシャルです。	**a** **[バッチテーブル]** ウィンドウのタイトルバーをクリックして、**[バッチテーブル]** ウィンドウを有効にします。 **b** **[ファイル] > [エクスポート] > [テーブルのエクスポート]** をクリックします。 **c** 出力先ディレクトリとして **My Documents** を指定します。 **d** エクスポートファイル名として「*iii*_Test_01.xls」と入力します。 **e** **[保存]** をクリックします。	

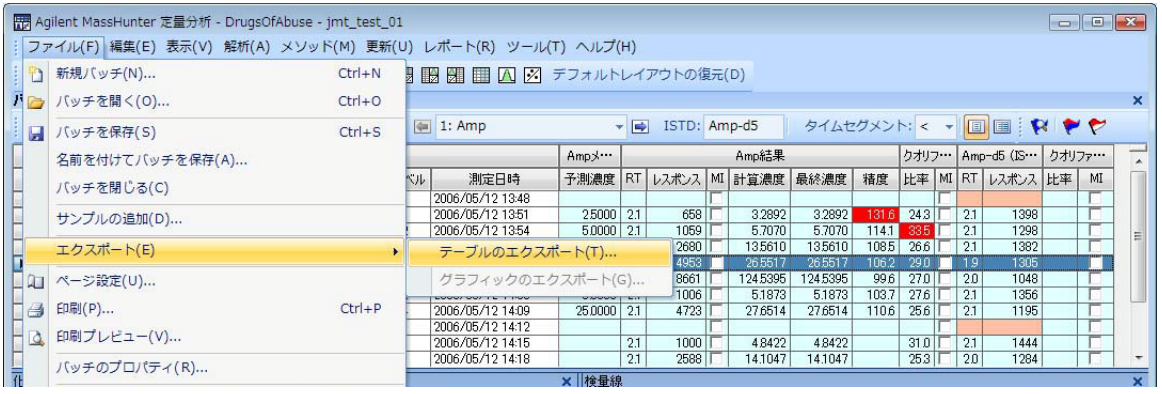
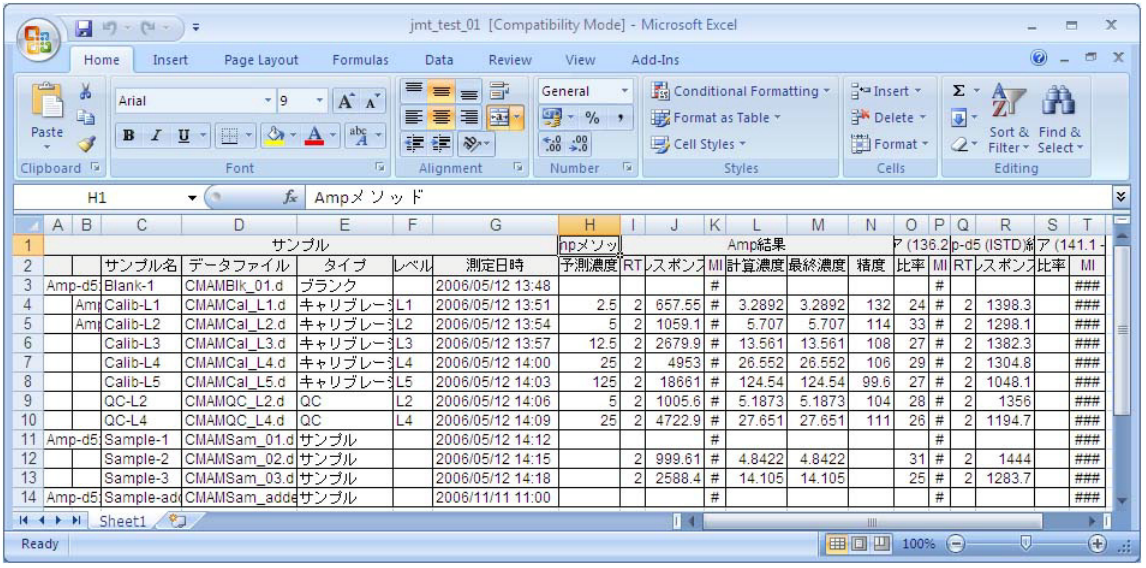


図 11 エクスポート結果

2 バッチ結果を Excel で確認し、Excel を終了します。 • エクスポートされる内容とエクスポートされない内容を確認してください。	**a** Microsoft Excel を起動します。 **b** **My Documents**\iii_**Test_01.xls** を開きます。 **c** エクスポートされる内容とエクスポートされない内容を確認してください。 **d** 終了したら、Excel を閉じます。	

ステップ	詳細説明	コメント



	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T
1	サンプル							hpメソッ			Amp結果				ア (136.2	p-d5 (ISTD)結		ア (141.1 -		
2			サンプル名	データファイル	タイプ	レベル	測定日時	予測濃度	RT	レスポンス	MI	計算濃度	最終濃度	精度	比率	MI	RT	レスポンス	比率	MI
3	Amp-d5		Blank-1	CMAMBlk_01.d	ブランク		2006/05/12 13:48				#					#				###
4		Am	Calib-L1	CMAMCal_L1.d	キャリブレー	L1	2006/05/12 13:51	2.5	2	657.55	#	3.2892	3.2892	132	24	#	2	1398.3		###
5		Am	Calib-L2	CMAMCal_L2.d	キャリブレー	L2	2006/05/12 13:54	5	2	1059.1	#	5.707	5.707	114	33	#	2	1298.1		###
6			Calib-L3	CMAMCal_L3.d	キャリブレー	L3	2006/05/12 13:57	12.5	2	2679.9	#	13.561	13.561	108	27	#	2	1382.3		###
7			Calib-L4	CMAMCal_L4.d	キャリブレー	L4	2006/05/12 14:00	25	2	4953	#	26.552	26.552	106	29	#	2	1304.8		###
8			Calib-L5	CMAMCal_L5.d	キャリブレー	L5	2006/05/12 14:03	125	2	18661	#	124.54	124.54	99.6	27	#	2	1048.1		###
9			QC-L2	CMAMQC_L2.d	QC	L2	2006/05/12 14:06	5	2	1005.6	#	5.1873	5.1873	104	28	#	2	1356		###
10			QC-L4	CMAMQC_L4.d	QC	L4	2006/05/12 14:09	25	2	4722.9	#	27.651	27.651	111	26	#	2	1194.7		###
11	Amp-d5		Sample-1	CMAMSam_01.d	サンプル		2006/05/12 14:12				#					#				###
12			Sample-2	CMAMSam_02.d	サンプル		2006/05/12 14:15		2	999.61	#	4.8422	4.8422		31	#	2	1444		###
13			Sample-3	CMAMSam_03.d	サンプル		2006/05/12 14:18		2	2588.4	#	14.105	14.105		25	#	2	1283.7		###
14	Amp-d5		Sample-ad	CMAMSam_adde	サンプル		2006/11/11 11:00				#					#				###

図 12 Excel 形式のバッチテーブル

3 [バッチテーブル] と [化合物情報] データのプリントアウトをプレビューします。

- [バッチテーブル] と [化合物情報] を印刷します。
- 実習 4 をすぐに実施しない場合、バッチを保存して終了します。

a **[バッチテーブル]** ウィンドウのタイトルバー内をクリックし、[**ファイル**] > [**プレビューの印刷**] をクリックします。Excel 2010 で、[**ファイル**] > [**印刷**] をクリックします。

b **[プレビューの印刷]** ウィンドウで [**バッチテーブル**] の表示を調べ、希望どおりに表示されているか確認します。

c **[印刷プレビュー]** ウィンドウを閉じます。

d [**バッチテーブル**] に問題がなければ、[**ファイル**] > [**印刷**] をクリックします。

e 化合物情報について、ステップ a ～ d を繰り返します。

f 実習 4 に進まない場合は、[**ファイル**] > [**バッチ保存**] をクリックします。

g **[ファイル]>[終了]** をクリックします。

[**印刷プレビュー**] プログラムの [**ファイル**] > [**印刷**] メニューをクリックして、[**印刷プレビュー**] プログラムの [**バッチテーブル**] を印刷することもできます。

実習 4
3 つのツールを使用した結果の評価

タスク 1. 検量線近似の調整　62
タスク 2. パラメータを用いない積分　65
タスク 3. 外れ値の検出　81

この実習では、3 つのツールを用いて、さらに正確な定量結果の評価と取得を行います。

- カーブフィットアシスタントは、すべての組み合わせの検量線を計算し、方程式と信頼帯を用いて結果を示します
- パラメータレス積分により、積分を改善するためのパラメータを特定する必要がなくなりました
- 外れ値メッセージは、指定範囲外の結果を簡単に検出するのに役立ちます

この実習では、DrugsOfAbuse バッチを使用します。トリプル四重極データファイル、Q-TOF データファイル、TOF データファイルを用いて同じタスクを実行できます。

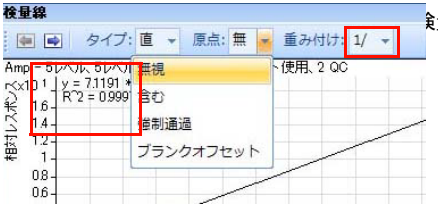
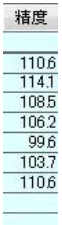
実習方法を示す表は、以下の 3 列に分けて表示されています。

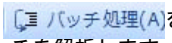
- ステップ - 操作概要です。各自でプログラムを実行します。
- 詳細説明 - ステップの実行に必要な手順を示しています。
- コメント - 実習の各ステップに関するヒントや追加情報を記します。

タスク 1. 検量線近似の調整

このタスクでは、化合物精度の外れ値を見つけ、検量線カーブフィットを調整し、バッチを再処理する方法について示します。

ステップ	詳細説明	コメント
1 必要に応じて、バッチファイル **iii_Test_01.batch.xml** を開きます。 バッチが既に開いている場合、ステップ 2 に進みます。	**a** デスクトップの **[QQQ 定量分析]** アイコン をクリックしてプログラムを起動します。 **b** ツールバーの **[バッチを開く]** をクリックし、**[バッチを開く]** ダイアログボックスを表示します。 **c** **\Your Directory\DrugsOfAbuse** に移動し、**iii_Test_01.batch.xml** をクリックします。	• [スタート] メニューから **[すべてのプログラム]** > **[Agilent]** > **[MassHunter Workstation]** > **[定量分析（QQQ）]** をクリックして、プログラムにアクセスすることもできます。 • デフォルトレイアウトが表示されない場合、バッチを開く前にツールバーの **[デフォルトレイアウトの復元]** をクリックします。 デフォルトレイアウトの復元(D)
2 アンフェタミン（Amp）の精度外れ値を探し、検量線を変更します。 • **原点**を **[無視]**、**[重み付け]** を **[1/y]** に設定します。	**a** **[バッチテーブル]** が 1 つの化合物を表示するモードに設定され、アンフェタミン（**Amp**）が表示されていることを確認します。下図の囲われた部分を参照してください。 	
	b **Calib-L1** 行のセルと **[精度]** 列をポイントし、下記のように外れ値メッセージを表示させます。 	• 外れ値を含むセルは赤色（高）または青色（低）になります。

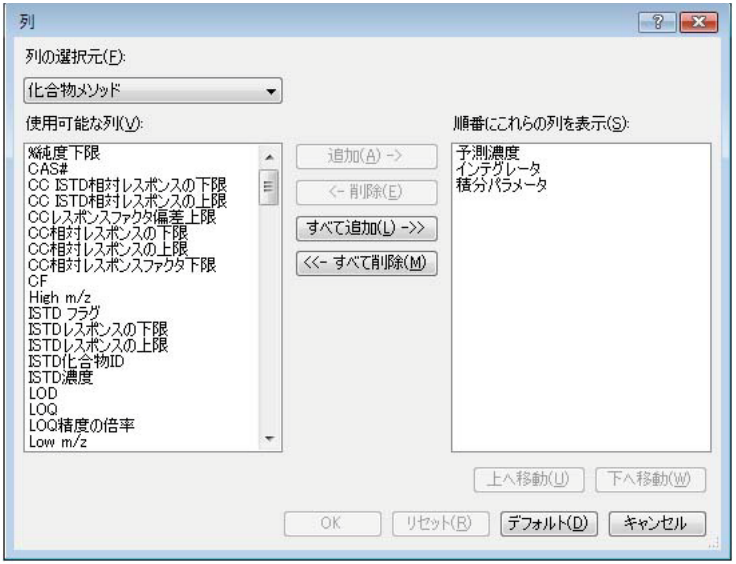
ステップ	詳細説明	コメント
	c [**検量線**] ウィンドウで、[**原点**] を [**無視**] に、[**重み付け**] を [**1/y**] に設定します。 新しい検量線近似式と決定係数 R^2 が表示されます。 	検量線の原点 • **強制通過** - 強制的に検量線が原点（X = 0、Y = 0）を通過するようにします。 • **無視** – 検量線が原点（X = 0、Y = 0）を使用するようには強制しません。 検量線の重み付け **なし** - すべてのデータポイントに同等の重み付けを行います。 **1/y** - データポイントに式 1/y を適用します。この式により、y の値が大きいと影響が弱まりますが、y の値が小さいと影響が強くなります。
3 [**バッチテーブル**] でバッチを解析し、結果を調べます。	**a** ツールバーの [**バッチ処理**] アイコン バッチ処理(A) をクリックし、バッチを解析します。 **b** バッチ解析後、[**バッチテーブル**] の結果を確認します。 	
4 他の化合物がある場合、精度外れ値を検索します。	**a** [バッチテーブル] ツールバーの [**次の化合物**] をクリックし、コカイン（Cocaine）、MDMA、メタンフェタミン（Meth）などの個々の化合物を表示します。 **b** 定量結果、特に [**精度**] 列の値を確認します。	• メタンフェタミン（Meth）の Calib-L3 標準サンプルの [精度] 値は、指定範囲外であることに注目してください。

ステップ	詳細説明	コメント
5 メタンフェタミン（Meth）の検量線を変更し、バッチを解析します。	a [**検量線近似**] ウィンドウで、[**原点**] を [**無視**] に、[**重み付け**] を [**1/y**] に設定します。 [定量分析] プログラムに、新しい検量線近似式と決定係数 R2 が表示されます。 b メインツールバーの **[バッチ処理]** アイコン  をクリックし、バッチを解析します。 バッチ解析後、[**バッチテーブル**] に新しい結果が表示されます。	

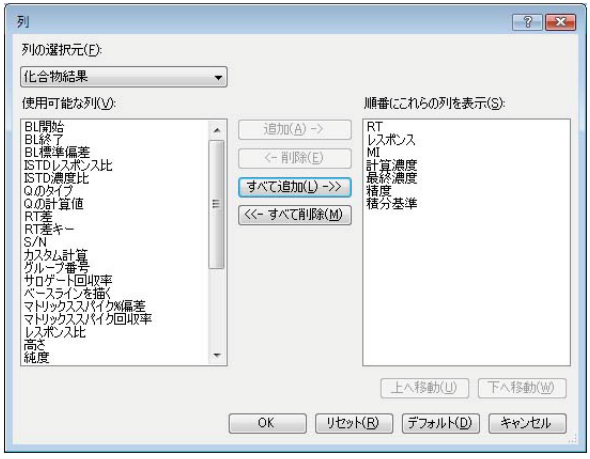
タスク 2. パラメータを用いない積分

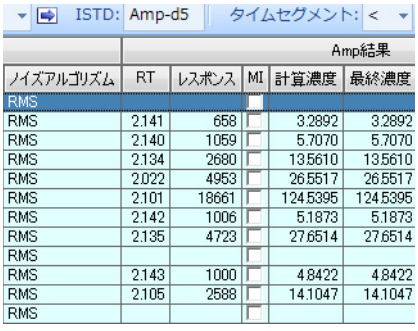
このタスクでは、データが正しく積分されていることを調べる方法を示します。以下のタスクの実行方法を学習します。

- [バッチテーブル] への積分列の追加
- デフォルト積分値の表示
- 以下の項目を確認し、クロマトグラムを詳細に調べる
  - 外れ値メッセージ
  - ベースラインパラメータ
  - ピークラベル

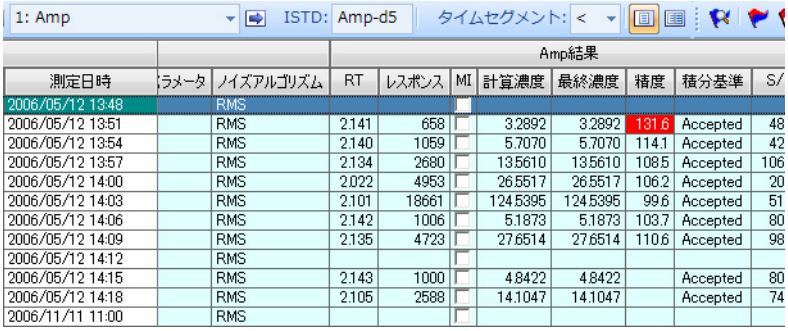
ステップ	詳細説明	コメント
1 [バッチテーブル] に積分列を追加します。 • [化合物メソッド] リストから [インテグレータ] と [積分パラメータ] 列を追加します。 • [化合物結果] リストから [バッチテーブル] に [積分基準] 列を追加します。	**a** **[バッチテーブル]** のどこかを右クリックし、**[列の追加/削除]** をクリックします。 **[列]** ダイアログボックスが表示されます。 **b** **[列の選択元]** ドロップダウンリストから **[化合物メソッド]** を選択します。 **c** **[使用可能な列]** リストから **[インテグレータ]** および **[積分パラメータ]** を選択して、**[追加]** をクリックします。 選択された列が **[順番にこれらの列を表示]** リストに移動します。 	• このタスクは、バッチ **iii_Test_01** が表示されている状態から開始してください。開いていない場合、タスク 1 のステップ1 を参照してください。

ステップ	詳細説明	コメント
	d **[列の選択元]** ドロップダウンリストから **[化合物結果]** を選択します。 **e** **[使用可能な列]** から **[積分基準]** を選択して、**[追加]** をクリックします。選択された列が **[順番にこれらの列を表示]** リストに移動します。 **f** **[OK]** をクリックします。	
2 アンフェタミン（Amp）のデフォルト積分値を確認します。 • **[インテグレータ]** タイプと **[積分パラメータ]** 列を確認します。 • **[積分基準]** 列を確認します。	**a** [バッチテーブル] ツールバーの **[前の化合物]** をクリックし、アンフェタミン（**Amp**）を表示します。 **b** **[バッチテーブル]** の **[インテグレータ]** と **[積分パラメータ]** 列のデフォルト値を確認します。	• 使用されるデフォルトのインテグレータは、パラメータを入力する必要のない MS-MS インテグレータであることに注目してください。そのため、**[積分パラメータ]** 列は空白です。



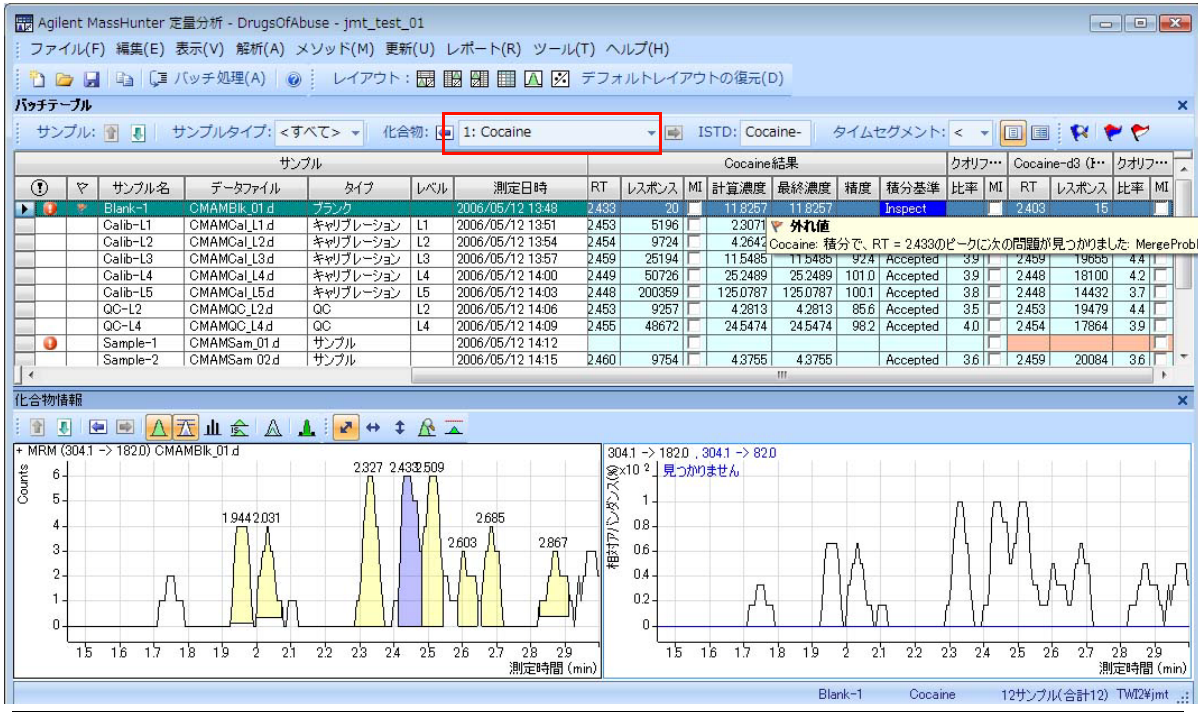


ステップ	詳細説明	コメント
	c [**バッチテーブル**] の [**積分基準**] 列のデフォルト値を確認します。	• これらの値は、ターゲット化合物アンフェタミン（Amp）に使用されたデフォルトの積分品質基準を反映しています。



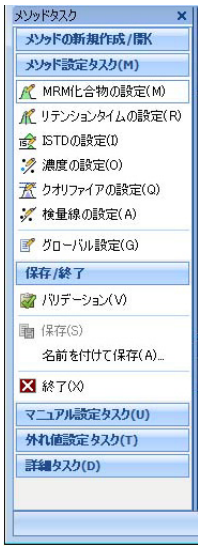
			Amp結果							
測定日時	ラメータ	ノイズアルゴリズム	RT	レスポンス	MI	計算濃度	最終濃度	精度	積分基準	S/
2006/05/12 13:48		RMS								
2006/05/12 13:51		RMS	2.141	658		3.2892	3.2892	131.6	Accepted	48
2006/05/12 13:54		RMS	2.140	1059		5.7070	5.7070	114.1	Accepted	42
2006/05/12 13:57		RMS	2.134	2680		13.5610	13.5610	108.5	Accepted	106
2006/05/12 14:00		RMS	2.022	4953		26.5517	26.5517	106.2	Accepted	20
2006/05/12 14:03		RMS	2.101	18661		124.5395	124.5395	99.6	Accepted	51
2006/05/12 14:06		RMS	2.142	1006		5.1873	5.1873	103.7	Accepted	80
2006/05/12 14:09		RMS	2.135	4723		27.6514	27.6514	110.6	Accepted	98
2006/05/12 14:12		RMS								
2006/05/12 14:15		RMS	2.143	1000		4.8422	4.8422		Accepted	80
2006/05/12 14:18		RMS	2.105	2588		14.1047	14.1047		Accepted	74
2006/11/11 11:00		RMS								

ステップ	詳細説明	コメント
3 コカイン（cocaine）と MDMA に関する積分の問題を表示します。 • 定量イオンとクオリファイアのクロマトグラムだけが表示されるように、[化合物情報] のクロマトグラム部分を拡大します。 • **Blank-1** サンプル行の **[積分基準]** 列にある外れ値メッセージを探します。	**a** **[検量線]** ウィンドウを閉じます。 **b** [化合物情報] ツールバーのクロマトグラム部分を拡大するには、**[スペクトルの表示 / 非表示]** アイコンをクリックします。 **c** **[ISTD の表示 / 非表示]** アイコンもクリックします。 **d** 化合物 **Cocaine** が表示されるまで、[バッチテーブル] ツールバーの **[次の化合物]** アイコンをクリックします。 **e** **Blank-1** の行を選択し、その行の **[積分基準]** 列にマウスカーソルを置きます。そのデータの外れ値メッセージの他、コカイン（cocaine）の積分されたクロマトグラムも表示されます。	

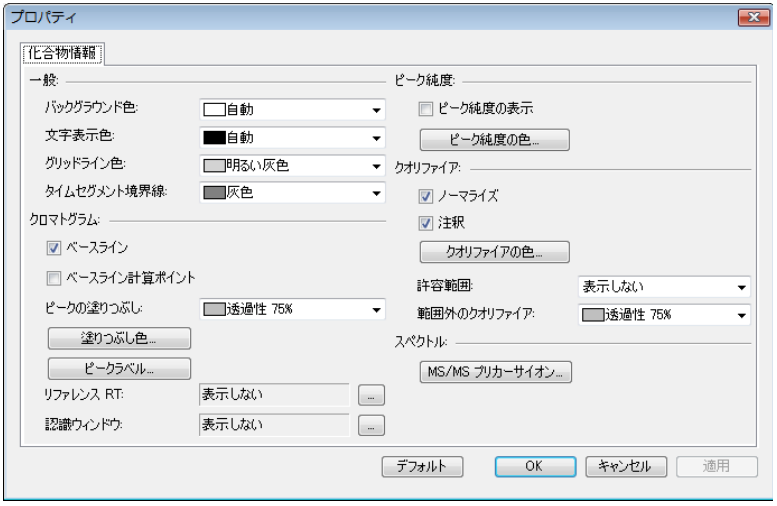
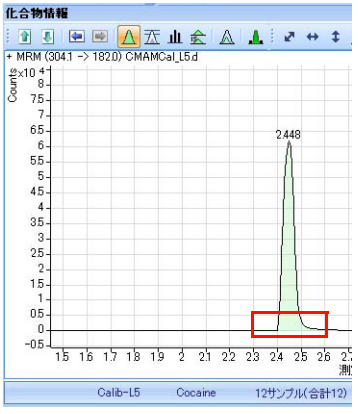


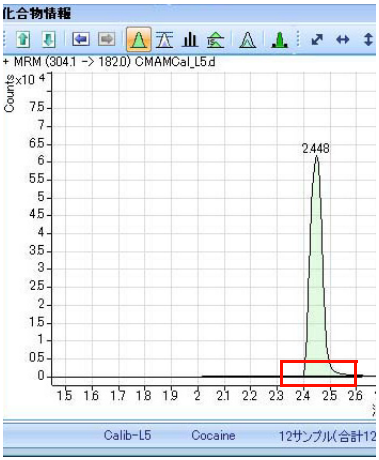
ステップ	詳細説明	コメント
	f 化合物 MDMA が表示されるまで、[バッチテーブル] ツールバーの [次の化合物] アイコン または [前の化合物] アイコン をクリックします。 **g [Blank-1]** 行を選択し、その行の **[積分基準]** 列にマウスカーソルを置きます。システムにはそのデータの外れ値メッセージの他、MDMA の積分されたクロマトグラムも表示されます。	• 外れ値メッセージには、「MDMA : 積分で、RT = 2.4664 のピークに次の問題が見つかりました : 干渉エラー」と表示されます。 • 積分基準に対して以下の色が表示されることに注目してください。 緑–OK 青–要調査 赤–却下 • これらの色は、ピークの色にも反映されます。
4 ノイズアルゴリズムを変更します。 • [化合物メソッド] リストから [ノイズアルゴリズム] 列を追加します。 • アンフェタミン（amphetamine）の **[ノイズアルゴリズム]** 列と **[S/N]** 列の値を確認します。	**a [バッチテーブル]** のどこかを右クリックし、**[列の追加/削除]** をクリックします。 **[列]** ダイアログボックスが表示されます。 **b [列の選択元]** ドロップダウンリストから **[化合物メソッド]** を選択します。 **c [使用可能な列]** リストから **[ノイズアルゴリズム]** を選択して、**[追加]** をクリックします。 選択された列が **[順番にこれらの列を表示]** リストに移動します。 **d [OK]** をクリックします。 **e** 化合物 Amp が表示されるまで、[バッチテーブル] ツールバーの **[前の化合物]** アイコン をクリックします。 **f [ノイズアルゴリズム]** と **[S/N]**（S/N 比）列の値を確認します。	

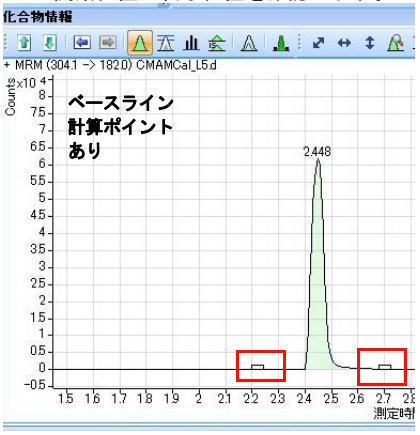
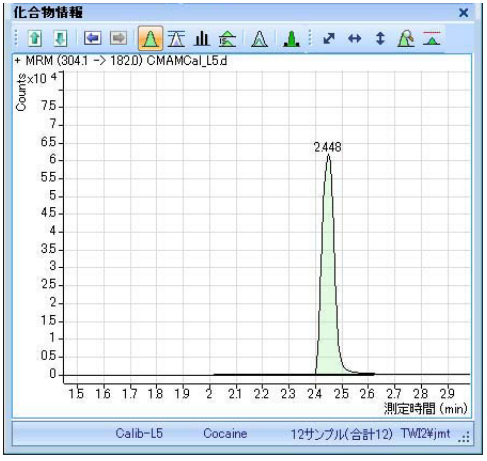
	Amp結果								クオリ
ノイズアルゴリズム	RT	レスポンス	MI	計算濃度	最終濃度	精度	積分基準	S/N	比率
RMS									
RMS	2.141	658		3.2892	3.2892	131.6	Accepted	48.96	24.3
RMS	2.140	1059		5.7070	5.7070	114.1	Accepted	42.25	33.5
RMS	2.134	2680		13.5610	13.5610	108.5	Accepted	106.52	26.6
RMS	2.022	4953		26.5517	26.5517	106.2	Accepted	20.26	29.0
RMS	2.101	18661		124.5395	124.5395	99.6	Accepted	51.59	27.0
RMS	2.142	1006		5.1873	5.1873	103.7	Accepted	80.96	27.6
RMS	2.135	4723		27.6514	27.6514	110.6	Accepted	98.30	25.6
RMS									
RMS	2.143	1000		4.8422	4.8422		Accepted	80.59	31.0
RMS	2.105	2588		14.1047	14.1047		Accepted	74.96	25.3
RMS									

ステップ	詳細説明	コメント
5 メソッドのアンフェタミン (amphetamine) に対するノイズアルゴリズムを RSM から ASTM に変更する方法を実習します。 • メソッドを終了しますが、保存しません。	**a** [**メソッド**] > [**編集**] をクリックし、メソッド編集モードに切り替えます。 **b** [**メソッドタスク**] > [**詳細タスク**] > [**S/N 比の設定**] をクリックします。[**メソッドテーブル**] のノイズ関連パラメータが表示されます。  **c** [**メソッドテーブル**] の Amp の [**ノイズアルゴリズム**] 列をクリックします。使用可能なノイズアルゴリズムのリストが表示されます。 **d** [**ASTM**] をクリックします。	

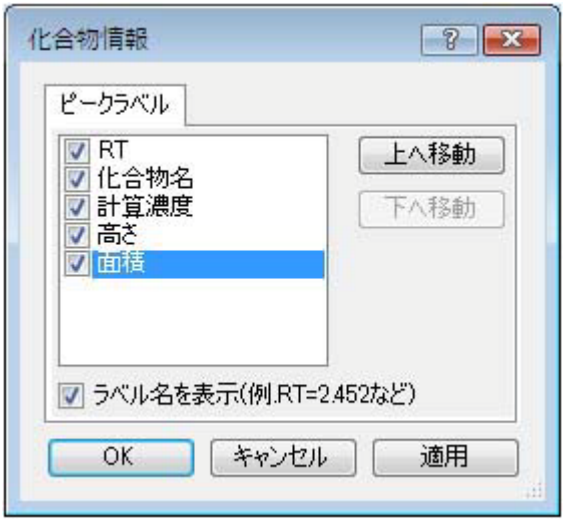
ステップ	詳細説明	コメント
	 e [メソッドタスク] > [保存/終了] > [終了] をクリックします。 f 終了プロンプトの [このメソッドをバッチに適用しますか?] で [いいえ] をクリックします。 [バッチ解析] モードが表示されます。	
6 アンフェタミン（amphetamine）に対してベースライン（最高濃度の標準サンプル）をオフに切り替えた後、オンに戻します。 • ウィンドウに [化合物情報] ウィンドウのみが表示されていることを確認します。 • ベースラインのオン / オフを切り替えて 2 つのクロマトグラムを比較します。	a サンプル [Calib-L5] を選択して（まだ選択されていない場合）、ツールバーの [化合物情報の最大化] アイコンをクリックします。 	• デフォルト設定として、ベースラインは定量イオンのクロマトグラムに対して描かれることに注目してください。

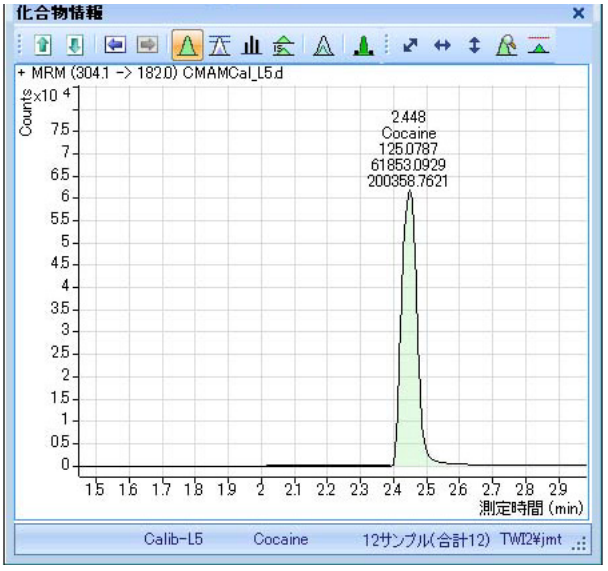
ステップ	詳細説明	コメント
	b いずれか一方のクロマトグラムを右クリックし、ショートカットメニューを開きます。ショートカットメニュー下の［**プロパティ**］をクリックして、［**プロパティ**］ダイアログボックスを開きます。 	
	c ［**プロパティ**］ダイアログボックスの［**ベースライン**］チェックボックスをオフにします。［**適用**］ボタンをクリックして、ベースラインのないピークを確認します。	• ベースラインのチェックボックスをオフにすると、ベースラインが表示されなくなることに注目してください。 

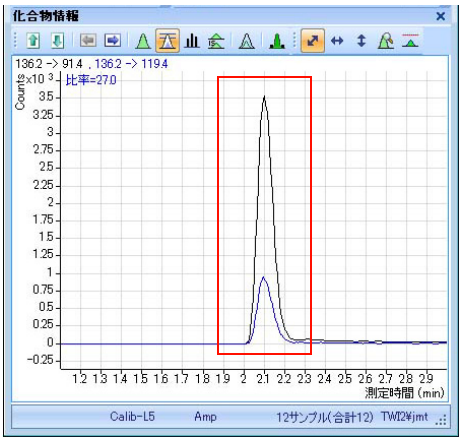
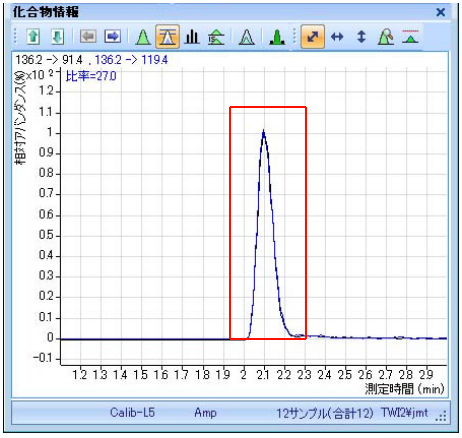
ステップ	詳細説明	コメント
	d ［**プロパティ**］ダイアログボックスの［**ベースライン**］チェックボックスをオンにします。［**適用**］ボタンをクリックして、ベースラインのあるピークを確認します。	

ステップ	詳細説明	コメント
7 アンフェタミン（amphetamine）のベースライン計算ポイントを調べます。	**a** **[プロパティ]** ダイアログボックスの **[ベースライン計算ポイント]** チェックボックスをオンにします。 **b** **[適用]** をクリックして、ベースラインの開始位置と終了位置を確認します。  **c** **[プロパティ]** ダイアログボックスの **[ベースライン計算ポイント]** チェックボックスをオフにします。 **d** **[適用]** をクリックして、クロマトグラムを確認します。 **e** ベースライン計算ポイントが描かれているクロマトグラムと描かれていないクロマトグラムを比較します。 	

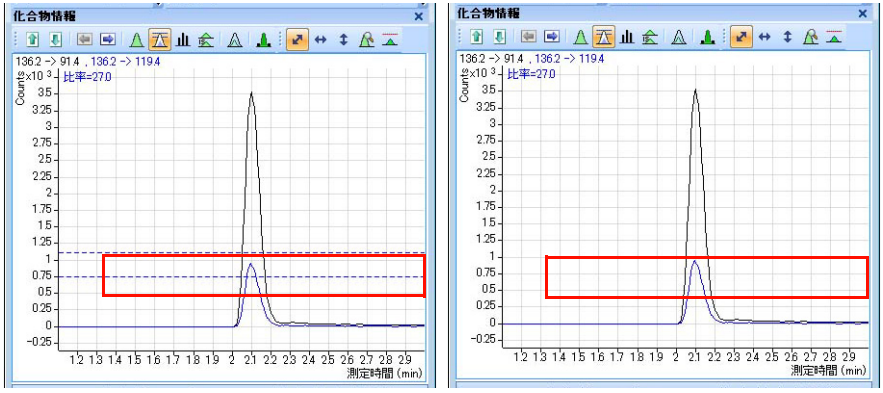
ステップ	詳細説明	コメント
8 アンフェタミン（amphetamine）のピークラベルを表示します。 • 次ページの図のようなピークラベルを表示します。 • 次に、元のリテンションタイムピークラベルを表示します。	**a** **［プロパティ］**ダイアログボックスの**［ピークラベル］**をクリックします。**［ピークラベル］**ダイアログボックスが表示されます。 **b** すべての**ピークラベル**のチェックボックスと**［ラベル名を表示］**チェックボックスをオンにして、**［OK］**をクリックします。	



ステップ	詳細説明	コメント
	c **[プロパティ]** ダイアログボックスの **[適用]** ボタンをクリックします。ピークラベルは下記の例のように表示されます。 	
	d **[プロパティ]** ダイアログボックスの **[ピークラベル]** をクリックします。**[ピークラベル]** ダイアログボックスが表示されます。 e RT（リテンションタイム）を除き、すべての**ピークラベル**をオフにします。**[ラベル名を表示]** チェックボックスをオフにし、**[OK]** をクリックします。 f **[プロパティ]** ダイアログボックスの **[適用]** をクリックし、ピークラベルが変更されることを確認します。	

ステップ	詳細説明	コメント
9 クオリファイアのクロマトグラムをノーマライズの前後で比較します。	a **[プロパティ]** ダイアログボックスの **[クオリファイア]** セクションにある **[ノーマライズ]** チェックボックスをオンにします。**[適用]** をクリックし、2 つのピークが収束し、1 つのピークとして表示されることを確認します。 	• B.04.01 以降のリビジョンの場合 : デフォルト設定では、ノーマライズされたクオリファイアピークが定量対象化合物ピークに重ね書きされて表示されることに注目してください。
	b **[プロパティ]** ダイアログボックスの **[クオリファイアのノーマライズ]** チェックボックスをオフにします。**[適用]** をクリックして、クオリファイアピークと定量対象化合物ピークを別々に再表示します。 	

ステップ	詳細説明	コメント
10 許容範囲の幅を表示します。	**a** 表示する許容範囲のタイプを **[プロパティ]** ダイアログボックスの **[許容範囲]** フィールドのドロップダウンメニューから選択します。**[適用]** をクリックすると、クオリファイアクロマトグラムに許容範囲の幅が表示されます。 **b** **[プロパティ]** ダイアログボックスの **[許容範囲]** ドロップダウンメニューから **[表示しない]** を選択します。**[適用]** をクリックすると、クオリファイアクロマトグラムから許容範囲の幅が削除されます。 **c** **[OK]** をクリックして、**[プロパティ]** ダイアログボックスを閉じます。 **d** **許容範囲の幅**の有無によるクオリファイアクロマトグラムの変化を比較します。	• 許容範囲の幅–クオリファイアアバンダンスの上限と下限を示す点線の幅

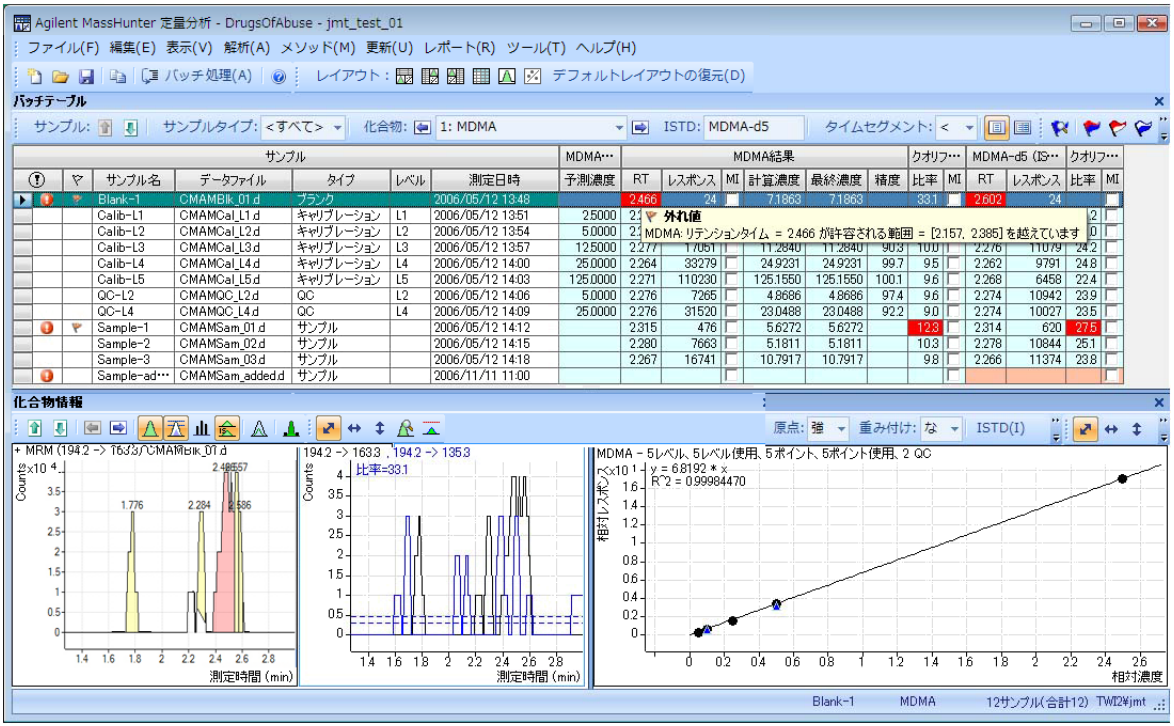


ステップ	詳細説明	コメント
11 [**バッチテーブル**] から [**インテグレータ**] および [**積分パラメータ**] 列を削除します。	**a** [**デフォルトレイアウトの復元**] ボタンをクリックします。 **b** [**バッチテーブル**] の［**Meth メソッド**］セクションを右クリックし、[**列の追加/削除**] をクリックします。 **c** 右側のリストから［**インテグレータ**］と［**積分パラメータ**］（化合物メソッド）を選択します。 **d** [**削除**] をクリックした後、[**OK**] をクリックします。	

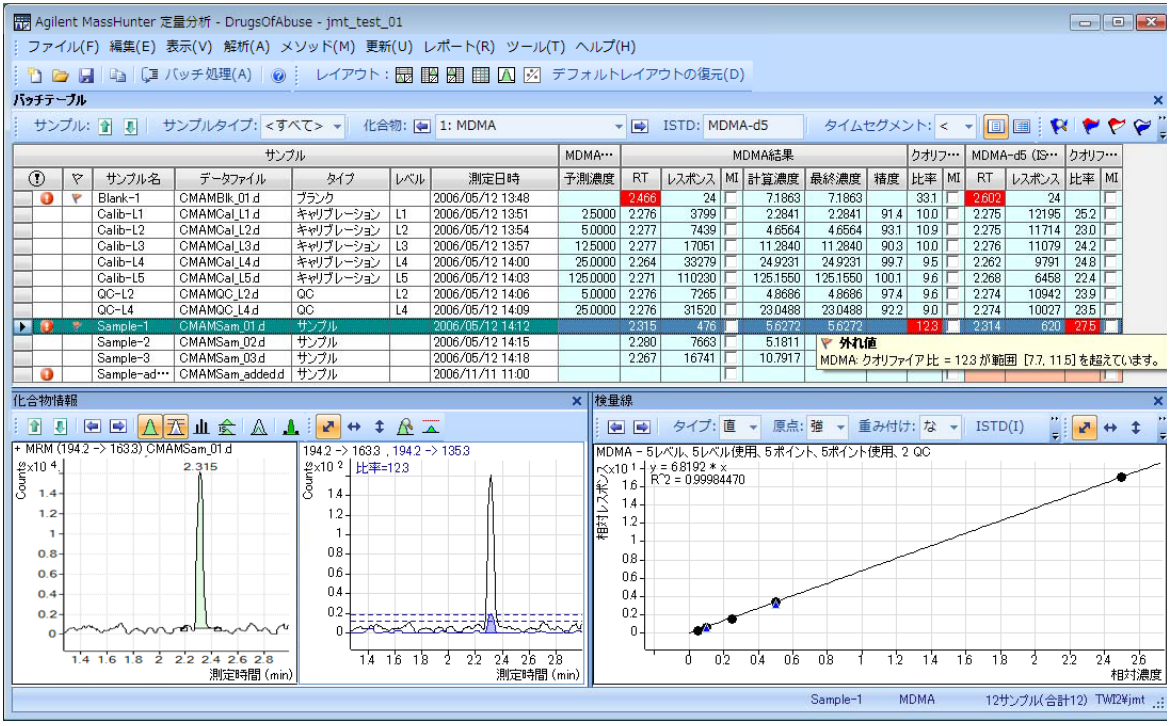
タスク 3. 外れ値の検出

このタスクでは、化合物の精度範囲の微調整と、外れ値フラグの付いた結果を表示および非表示にする方法を示します。

ステップ	詳細説明	コメント
1 MDMA の外れ値情報を表示します。	a 化合物MDMAが表示されるまで、[バッチテーブル] ツールバーの［次の化合物］アイコンをクリックします。 b [Blank-1] 行を選択し、下記のように [RT] 列をマウスカーソルで指します。	



ステップ	詳細説明	コメント
	c 下記の例のように、サンプル 1 の [**クオリファイアの結果**] > [**比率**] 列の外れ値情報を調べます。	



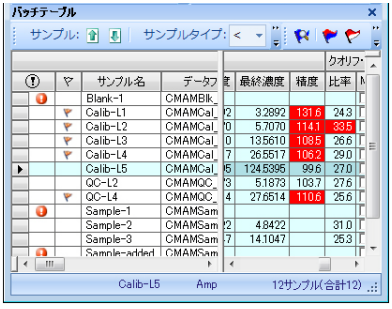
2 メソッドのアンフェタミン（amphetamine）の精度範囲を変更し、バッチを再解析します。 • 精度の最大パーセント偏差（**精度％偏差の上限**）を **5%** に設定します。	a 化合物 **Amp** が表示されるまで、ツールバーの [**前の化合物**] アイコン をクリックします。 b テーブルの **[Calib-L5]** 行を選択します。 c [**メソッド**] > [**編集**] をクリックし、メソッド編集モードに切り替えます。 d [**メソッドタスク**] > [**外れ値設定タスク**] > [**精度**] をクリックします。 e **Amp** に対して、[**精度％偏差の上限**] を **5%** に設定します。	スクロールバーの左側の小さな長方形をドラッグすることで、[**メソッドテーブル**] を分割できます。下記の例では、下のスクロールバーの長方形を使用して、[**メソッドテーブル**] を分割しました。2 つのセクションの情報はまったく同じです。この 2 つのペインを使用して、テーブルの 2 つのセクションを同時に見ることができます。

ステップ	詳細説明	コメント

2 つの異なるスクロールバーを使用して、2 つのセクションを別々に移動することができます。

f **[メソッドタスク]** > **[保存/終了]** > **[終了]** をクリックして、確認のプロンプトで **[はい]** をクリックし、メソッドを終了してバッチにメソッドを適用します。

g F5 を押し、バッチを解析します。
これで、赤（高）と青（低）の外れ値が、Amp の **[精度]** 列に表示されます。



[バッチテーブル] も 2 つのセクションに分割できます。デフォルトでは **[サンプル]** 列の位置がロックされ、他の列だけスクロールします。テーブルを 2 つのセクションに分割する場合、各セクションに表示する列を指定できます。**[バッチテーブル]** を分割する場合、[バッチテーブル] ショートカットメニューの **[サンプル列のロック]** メニュー項目の選択を解除する必要があります。

ステップ	詳細説明	コメント
3 次の外れ値フラグアイコンセットを使用します。 • 上側の外れ値を持つサンプルを確認します。 • 上側 / 下側の外れ値を持つサンプルを確認します。 • すべてのサンプルを再表示します。 • Amp の**精度**と **RT** に関する外れ値フラグを非表示にします。 • これらの外れ値フラグを再表示します。	**a** ツールバーの [**上側の外れ値を持つサンプルを表示**] アイコン をクリックし、上側の外れ値を持つサンプルだけを表示します。 **b** ツールバーの [**上側 / 下側の外れ値を持つサンプルを表示**] アイコン をクリックし、上側と下側の外れ値を持つサンプルだけを表示します。 **c** [**上側 / 下側の外れ値を持つサンプルを表示**] アイコン を再びクリックし、すべてのサンプルを表示します。 **d** [**外れ値の選択**] アイコン をクリックし、[**外れ値**] ダイアログボックスを呼び出します。 **e** [**精度**] チェックボックスと [**リテンションタイム**] チェックボックスをオフにし、[**OK**] をクリックします。 **f** [**外れ値の選択**] アイコン をクリックし、[**外れ値**] ダイアログボックスを呼び出します。 **g** [**精度**] と [**リテンションタイム**] チェックボックスをオンにし、[**OK**] をクリックします。	• [**バッチテーブル**] を復元して、外れ値あり / なしのすべてのデータファイルを表示するには、外れ値をフィルタするために選択したアイコンを再びクリックするだけであることに注目してください。

実習5
定量レポートの作成

この実習は、以下の実行方法を学習します。

- テンプレートを使用したレポートの作成
- レポートのレビュー

この実習では、**DrugsOfAbuse** バッチを使用します。トリプル四重極データファイル、Q-TOF データファイル、TOF データファイルを用いて同じタスクを実行できます。

実習方法を示す表は、以下の 3 列に分けて表示されています。

- ステップ - 操作概要です。各自でプログラムを実行します。
- 詳細説明 - ステップの実行に必要な手順を示しています。
- コメント - 実習の各ステップに関するヒントや追加情報を記します。

レポートデザイナの [詳細］タブで、オプションを設定することにより、レポートをカスタマイズすることができます。［詳細］オプションの詳細については、オンラインヘルプを参照してください。

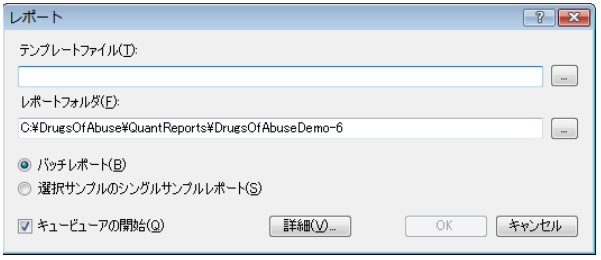
MassHunter では以下の 2 つの設定を使用して、レポートの作成方法を指定します。

- **レポートテンプレート**の設定。(事前に定義された 50 以上の Excel テンプレートがあります。完全なリストについては、オンラインヘルプを参照してください)。
- **レポートモード**の設定。(バッチまたはサンプル)
  - **[バッチレポート]** モードでは、レポート全体で 1 つの Excel ファイルを作成します。
  - **[シングルサンプルレポート]** モードでは、指定した各サンプルについて 1 つずつ個別の Excel ファイルを作成します。

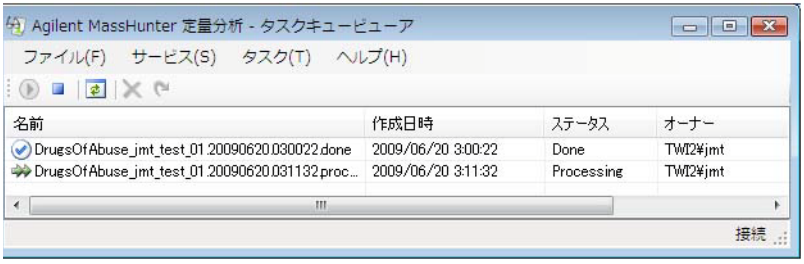
このタスクでは、まず Excel テンプレートを 1 つ使用して単一のサンプルレポートを作成し、次に同じテンプレートを使用して完全なバッチレポートを作成します。

ステップ	詳細説明	コメント
1 必要に応じて、バッチファイル **iii_Test_01.batch.xml** を開きます。 バッチが既に開いている場合、ステップ 2 に進みます。	**a** デスクトップの [**定量分析（QQQ）**] アイコンをクリックします。 **b** ツールバーの [**バッチを開く**] をクリックし、[**バッチを開く**] ダイアログボックスを表示します。 **c** **\Your Directory\DrugsOfAbuse** に移動し、**iii_Test_01.batch.xml** をクリックします。	• [スタート] メニューから [**すべてのプログラム**] > [**Agilent**] > [**MassHunter Workstation**] > [**定量分析（QQQ）**] をクリックすることも、プログラムにアクセスすることもできます。 • デフォルトレイアウトが表示されない場合、バッチを開く前にツールバーの [**デフォルトレイアウトの復元**] をクリックします。
2 まず **Sample 1** のシングルサンプルレポートを作成します。[バッチテーブル] の [**Sample 1**] を選択します。	複数サンプルのレポートを作成する場合には、Shift キーと Ctrl キーを使用して [バッチテーブル] から複数のサンプルを選択します。	• [バッチテーブル] で選択した各サンプルについて、独立したサンプルレポートが作成されます。この例では、サンプルを 1 つしか選択しなかったため、サンプルレポートは 1 つしか作成されません。
3 レポートテンプレートを選択します。 ◦ テンプレート **Quantreport_ISTD_ByCompound_B_04_02_Ja.xltx** を追加します。	**a** ツールバーの [**レポート**] > [**作成**] をクリックします。 [**レポート**] ダイアログボックスが表示されます。 **b** [**テンプレートファイル**] フィールド横の [**参照**] ボタン をクリックして、[**開く**] ダイアログボックスを表示します。 **c** **Letter\ISTD\ByGroup** ディレクトリに移動し、**Quantrport_ISTD_ByCompound_B_04_02.xlt** を選択して、[**開く**] をクリックします。 テンプレートが [**レポート**] ダイアログの [**テンプレートファイル**] フィールドに追加されます。	• **B_04_02** という名前は定量分析ソフトウェアのリリースに対応したもので、いずれ変更されることに注意してください。そのため、デフォルトレポートファイル名はリリースに応じて変わります。

ステップ	詳細説明	コメント
4 このレポートのデフォルト出力先ディレクトリを受け入れます。	[**レポートフォルダ**] テキストボックスで、Excel レポートを保存するための出力先ディレクトリを変更できます。たとえば、**\Your Directory\DrugsOfAbuse\QuantReports**iii_**Test_03** と指定します。ただしこの実習では、デフォルトを受け入れます。	• [**レポートフォルダ**] フィールドで、レポートを保存するフォルダを指定することができます。デフォルトでは、バッチディレクトリ内の [**QuantReports**] サブディレクトリにあるバッチの名前にダッシュ記号と番号を付けたサブディレクトリになっています。[**レポートフォルダ**] フィールドの横の [**参照**] ボタンを選択して、別のディレクトリに変更した場合は、レポートテンプレート名に連番カウンタ、アンダースコア記号、およびサンプル名が追加されたものが自動的に付きます。



ステップ	詳細説明	コメント
5 [**選択サンプルのシングルサンプルレポート**] ラジオボタンを選択します。	このオプションでは、選択したサンプルのそれぞれについて独立した**サンプルレポート**が作成されます（この例では、**Sample 1**）。	• シングルサンプルレポートが、各 Excel テンプレートをもとに作成されます。この場合は、テンプレートを 1 つ指定したため、サンプルレポート 1 つ（Excel ファイル 1 つ）が作成されます。
6 [**出力**] を選択します（オプション）。	このオプションを使用すると、レポートを PDF として表示、印刷できます。	
7 [**OK**] をクリックして、レポートを作成します。 • [**タスクキュービューア**] のレポート作成のステータスを確認します。	**a** レポート作成中にレポートの進捗状況を表示する場合は、[**キュービューアの開始**] チェックボックスをオンにします。 **b** [**レポート**] ダイアログボックスの [**OK**] をクリックし、レポートを作成します。 **c** [**ステータス**] 列でレポートの進捗状況を観察します。 レポートが完成するとプロンプトが表示され、ステータス列にレポートが完成したことが示されます。	• 作成されるレポートはすべて、ビューアに表示されます。最新のレポートがリストの一番上に表示されます。



8 レポートを表示または印刷するには、Excel を開きます。	**a** 表示するレポートをハイライトします。 **b** [**タスクキュービューア**] ダイアログボックスのメニューから [**アクション**] を選択します。最も最近作成されたレポートを示すドロップダウンメニューが表示されます。 **c** レポートファイルをクリックして Excel スプレッドシートを開きます。	• レポートは Excel を使用して表示または印刷を行います。 • Windows Explorer からファイルを選択してスプレッドシートを開くこともできます。

ステップ	詳細説明	コメント
9 これと同じテンプレートを使用してバッチレポートを作成します。[バッチテーブル] に戻ります（ステップ 1 で説明）。	Excel スプレッドシートを終了して、**iii_Test_01.batch.xml** に戻ります。	
10 上記のステップ 3 と 4 を繰り返します。		
11 **[バッチレポート]** ラジオボタンを選択します。	これにより、選択したバッチのすべてのデータを含む単一のバッチレポート（1 つの Excel ファイル）が生成されます。	
12 ステップ 6 と 7 を繰り返して、レポートを作成および表示をします。		

5 定量レポートの作成

リファレンス

10 の主要機能　92
定量メソッド　96
パラメータレス積分　97
バッチ一覧: 結果　99
化合物クロマトグラムの一覧　100
化合物の確認　102
化合物キャリブレーション　103

10 の主要機能

定量分析には、データをより簡単かつ強力に積分、定量、レビューするために、次の 10 の機能が搭載されています。

バッチ一覧: バッチテーブル設定

- 新規バッチ - サンプルと化合物について 1 つのビューから操作できるバッチテーブルを作成します。
- バッチ処理 - 現在開かれているメソッドを用いて、検量線を再作成し、すべてのサンプルを再定量します。
- 定量 - 現在のバッチ、サンプル、化合物に既存の検量線を適用します。

  定量の適用が細分化されているため、特定シグナルをすばやく操作できます。
- 積分 - 現在のバッチ、サンプル、化合物シグナルを積分します。

メソッドエディタ

- MRM 設定 - シンプルな段階的方法で定量メソッドを示します。
- 測定した MRM データからのメソッド作成 - ISTD の関係と濃度の割り当てを設定すると、測定メソッドから定量メソッドを自動的に作成します。
- [サンプル情報] ウィンドウのグラフィックを用いて、メソッドを自動的に作成します。
- 時間区分によるグループ - 時間区分順の化合物によりメソッドを整理します。
- 検証 - 定量メソッドが厳しい基準を満たすようにします。
- 同位体希釈 -（Rx、Ry）Colby 定数計算による調整をサポートします。

キャリブレーション

- カーブフィットアシスタント - すべての検量線の組み合わせを計算し、無効なポイントを選択します。検量線の方程式とともに、ソートやカスタムフィルタが可能な信頼帯、R^2（決定係数）、標準誤差、最大残差 % 等の結果を表示します。
- 希釈アシスタント - デフォルトまたは指定した連続希釈法に基づき、キャリブレーションレベルを計算および作成します。

- キャリブレーションレベルのコピー - ある化合物から別の化合物にキャリブレーションレベルをコピーします。
- キャリブレーションポイントの無効 - レベルまたは表の個々の化合物に基づくか、グラフから対話形式でキャリブレーションポイントを無効にします。
- カーブフィット - 以下の検量線タイプをサポートしています。
  - タイプ:直線、二次曲線、一次対数、二次対数、平均レスポンスファクタ
  - 原点:無視、含む、強制通過、ブランクオフセット
  - 重み付け:なし、1/x、$1/x^2$、1/y、$1/y^2$、log、$1/SD^2$
- 曲線の置き換え - 既存のキャリブレーションサンプルから検量線を作成します。
- 複製の平均化 - 化合物別に、既存の検量線内の新しい複製を平均化します。
- レベルのインポート - ファイルからキャリブレーションレベルと濃度をインポートします。
- グラフのズーム - X、Y、X-log、Y-log の自動拡大、縮小が可能です。さらに指定されたレベルに自動調整するインテリジェントなズーム機能でグラフを表示できます。

インテグレータ

- Agile インテグレータ - 手動積分作業を減らす全レベルのシグナルでのパラメータによらないインテグレータを提供します。
- 積分基準 - シグナルの積分結果を、OK、要調査、却下、の 3 段階で評価する品質基準を設けます。
- S/N 比 - ピークの S/N 比を計算します。
- グラフ - 化合物の図示とピーク情報の表示の優れた相互作用を示します。

バッチ一覧:結果

- ナビゲーション - サンプル、化合物、タイムセグメント、化合物グループ間をすばやく移動します（前、次、直接）。
- 化合物ビュー - 現在の化合物/サンプルの詳細、または複数/サンプルの化合物のサマリの間で切り替えます。
- バッチテーブルビュー - フラットテーブルレイアウトや、縦または横のネストテーブル、化合物テーブルレイアウトに変更して詳細を表示することが可能です。
- ウィンドウレイアウト - 画面をデフォルトに再整理するか、カスタムウィンドウレイアウトを保存するか読み込みます。

- ペインを浮かせる - デュアルモニター表示を有効にするため、ペインを別のモニター上に浮かせます。
- テーブルのエクスポート - バッチ一覧テーブルを Excel ファイルに直接エクスポートします。
- グラフィックのエクスポート - 複数の形式でカスタマイズしたサイズにグラフをエクスポートします。
- コピー/貼り付け - Word、PowerPoint、Excel などの Microsoft Office アプリケーションにグラフを直接コピーまたは貼り付けます。
- 印刷/プレビュー - WYSIWYG（what-you-see-is-what-you-get [表示内容が入手内容]）形式で画面内容を印刷またはプレビューします。
- 自動レビュー - 詳細に検討するためにいつでも停止できる、対話形式のサンプル自動スクロール表示ツールです。
- フィルタ - サンプルタイプのどんな組み合わせも表示します。
- ソート - テーブルに表示される任意の列をソートします。
- 列 - 列の追加、削除、並べ替え、保存、読み込み、復元、リセットを可能にします。

化合物クロマトグラムの一覧: 結果

- 印刷/印刷プレビュー - 化合物クロマトグラムを印刷またはプレビュー表示します。
- コピー / ページのコピー - 選択した化合物クロマトグラムまたは画面上のすべての化合物クロマトグラムを、Microsoft Office アプリケーション（Word、PowerPoint、Excel など）にコピーします。
- 化合物クロマトグラムの編集 - データをマニュアル積分したり、ゼロピーク化合物として選択することができます。
- 表示 - クロマトグラムの詳細（ベースライン、ピークの塗りつぶしなど）を表示します。
- 軸調整 - X または Y 軸のリンク / リンク解除、ペインに合わせたオートスケール、ピークまたはキャリブレーションレベルへのオートスケールを行います。
- レイアウト - 化合物またはサンプルによる行の構成、クロマトグラムの重ね描きの選択、サンプルごとあるいは化合物ごとのレビュー選択、および表示オプションの設定を行います。
- 外れ値のハイライト - 外れ値を持つ化合物をハイライトします。

外れ値検出

- 管理 - 検出でき、個々に制御できる特定の外れ値を設定および選択します。

- 強調表示 - 結果テーブルの外れ値を強調表示します（上側 - 赤、下側 - 青）。
- フィルタ - 選択したタイプのフィルタの表示ができます。
- 外れ値 - 外れ値検出のための特定タイプのデータをサポートしています。
- 定量メッセージ - 定量中に深刻な問題に直面したサンプルの警告を警告します。

レポート

- 作成 - Excel XML にインポートおよびフォーマットするためのグラフとレポート結果を作成します。
- カスタム - Excel テンプレートをカスタマイズできます。

更新

- リテンションタイムの更新 / 平均化 - 化合物のリテンションタイムを更新または平均化します。
- クオリファイア比の更新 - サンプルに基づき化合物のクオリファイア比を更新します。
- 質量割り当ての更新 - サンプルに基づき化合物の質量割り当てを更新します。

定性

- サンプル情報 - サンプルのクロマトグラムと抽出スペクトルを表示します。
- クロマトグラム / スペクトル - さまざまなタイプのシグナルのスペクトルを検索するために使用できる重要な機能を提供します。

定量メソッド

メソッドエディタにより、測定した MRM データファイル（図 13）、SIM データファイル、スキャンデータファイル、またはマニュアル設定により新規定量メソッドを作成できます。

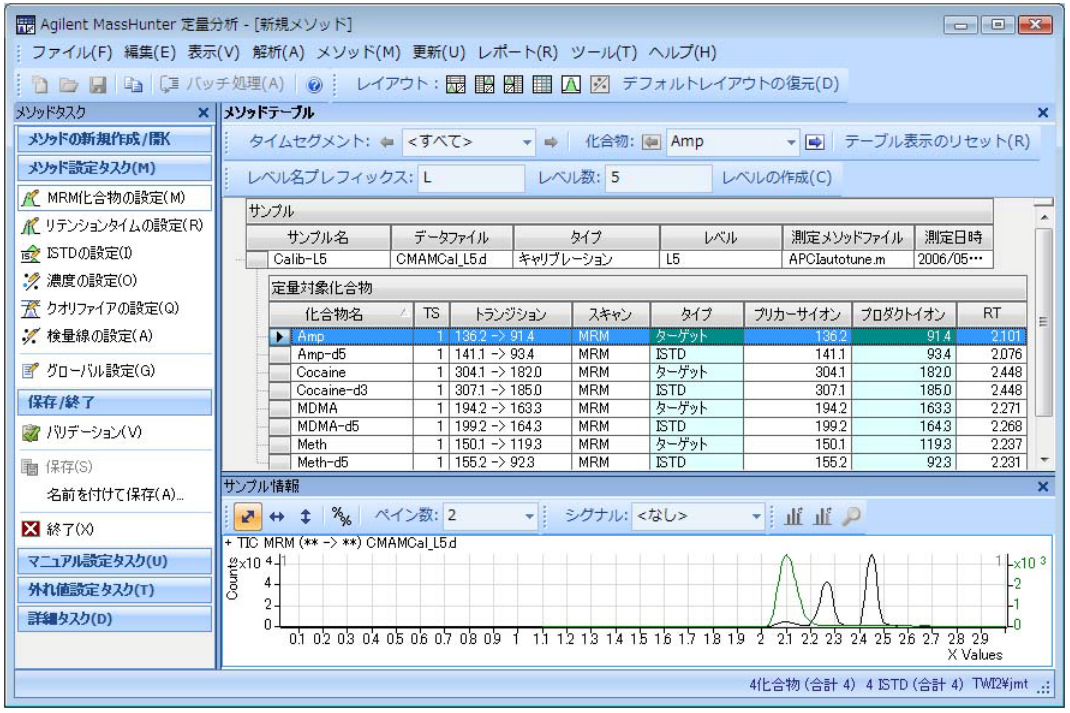


図 13 定量ビュー - メソッドエディタ

メソッド設定を行うための参考として、バッチテーブルから選択されたファイルを使用します。次にこれらの設定を使用して検量線を作成し、キャリブレーションサンプル、QC サンプル、サンプルを定量します。

パラメータレス積分

パラメータレス積分とは

アジレントは、MS/MS データに対して特に効果的に機能する新しいピークインテグレータアルゴリズムを開発しました。パラメータレス積分には以下の利点があります。

- ピークの開始点と終了点を統計的に設定することで、ノイズレベルの低いデータを扱います。
- スレッショルドを自動的に調整します。
- 低い MRM シグナルのピークを手動で再積分する必要がなくなります。
- 信頼性が高いと思われるピークと却下すべきピークを識別します。

積分結果の例

図 14 に、両極端なデータを示します。

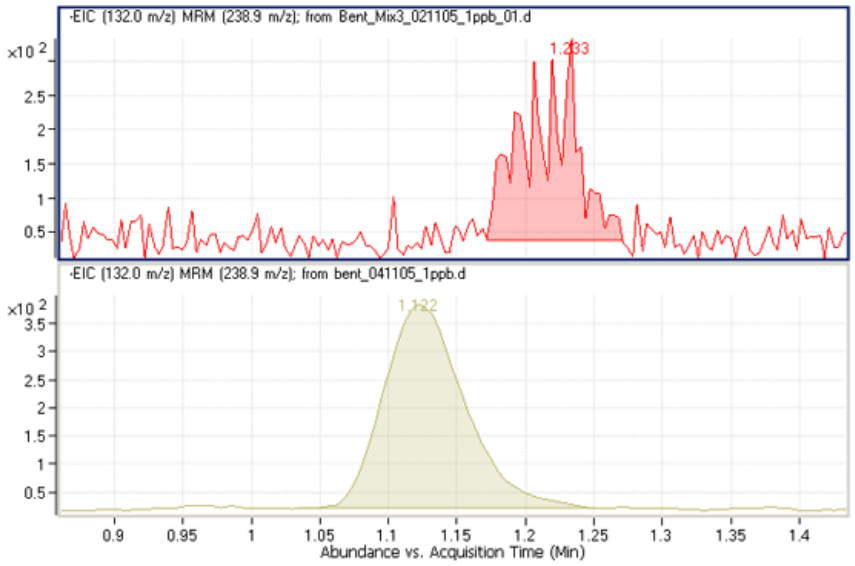


図 14　パラメータレス積分 - 両極端なデータ

下のクロマトグラフピークは良いガウス形状のピークをしているため簡単に積分できますが、上のピークのベースラインを定義するのは困難です。実際、多くのインテグレータアルゴリズムでは、これらの結果を複数のピークとして積分する場合があります。

しかし、アジレントの新しいアルゴリズムはベースラインの定義に問題はなく、これを 1 つピークと認識します。実際、図で示すようにベースラインが水平ではなく上昇していたとしても、新しいインテグレータアルゴリズムでは 1 つのピークとして積分します。

バッチ一覧: 結果

アンフェタミン（Amp）の分析から得られた積分結果を、図 15 に示します。これは **[バッチテーブル]**、**[化合物情報]**、**[検量線]** のフラットビューです。

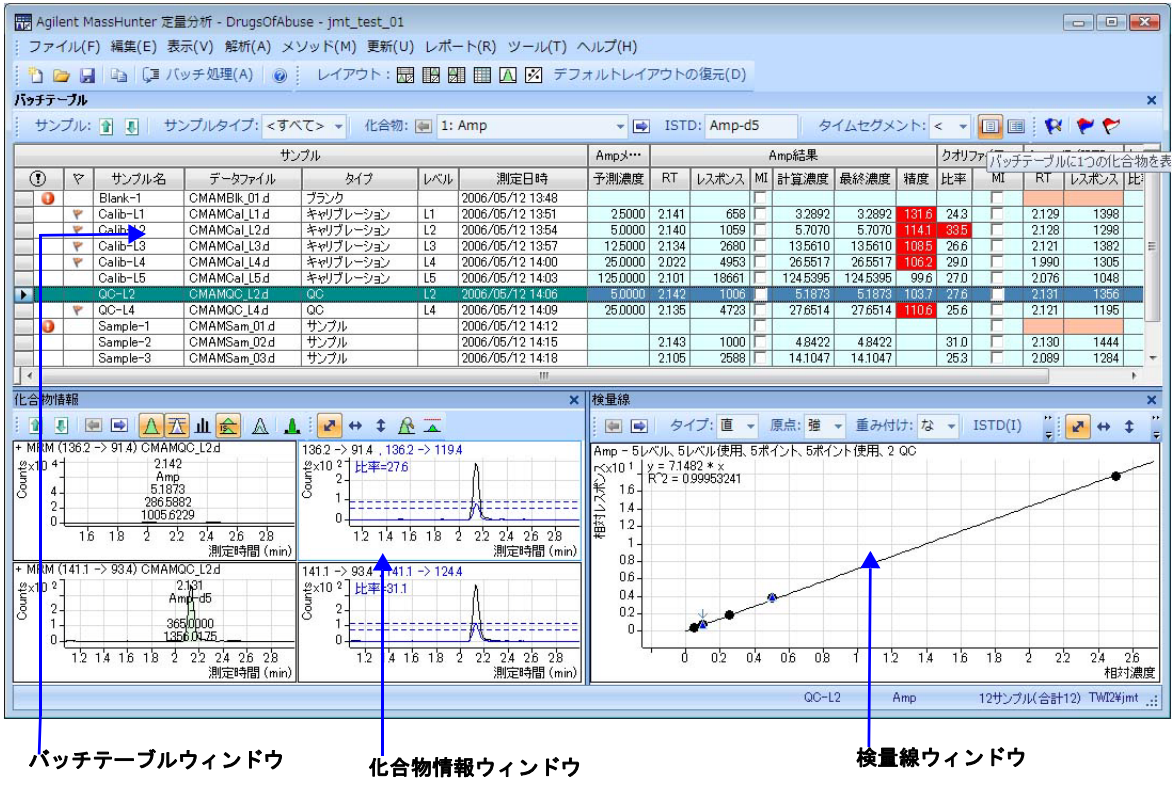


図 15　Amp 結果

- **[バッチテーブル]** には、各データファイルへ定量メソッドを適用した積分結果が表示されます。色付きの強調表示は、予測より低い（青）または高い（赤）結果を示します。
- 左下の **[化合物情報]** ウィンドウには、積分されたクロマトグラフピークが表示されます。
- **[検量線]** は右下に表示されます。

化合物クロマトグラムの一覧

化合物クロマトグラムの一覧ビューは、各サンプルで検出された化合物クロマトグラムを表示します（図 16）。この機能により、化合物クロマトグラムを表示させ、データ解析が容易になるように表示方法を調整することができます。サンプルバッチ内の化合物の傾向を見つける食品安全検査分野で、特に有用です。

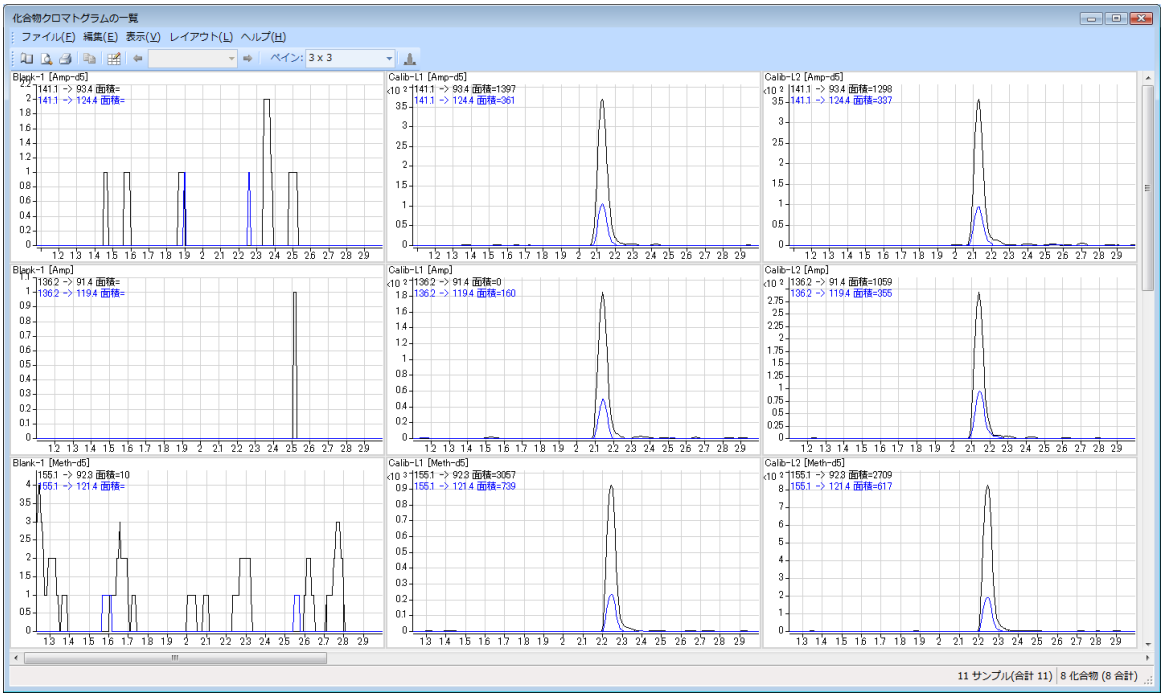


図 16 定量分析における化合物一覧

化合物クロマトグラムの一覧の設定を使用して、ビューに含める化合物やサンプルを選択することができます。図 17 に示すように、**[グラフィックスの設定]** ボックスの上部に表示されているタブを使用して、クロマトグラムの選択と並べ替えに関するさまざまなオプションを設定します。

- **[サンプル]** タブには、バッチ内のすべてのサンプルリストがあり、すべてのサンプルを表示させたり、特定のサンプルを表示させたりするオプションを設定します。
- **[化合物]** タブには、バッチ内で検出された化合物のリストがあり、表示する化合物をこのリストから選択できます。

- **[配列]** タブでは、クロマトグラムの列配置をサンプルまたは化合物に指定できます。また、化合物、サンプル、および外れ値の重ね描きオプションも用意されています。タブには、ベースラインの表示やピークの塗りつぶしなど、化合物の検出傾向を最適に表示するためのクロマトグラム調整オプションが用意されています。
- **[外れ値]** タブには、データ内の外れ値の表示オプションが用意されています。

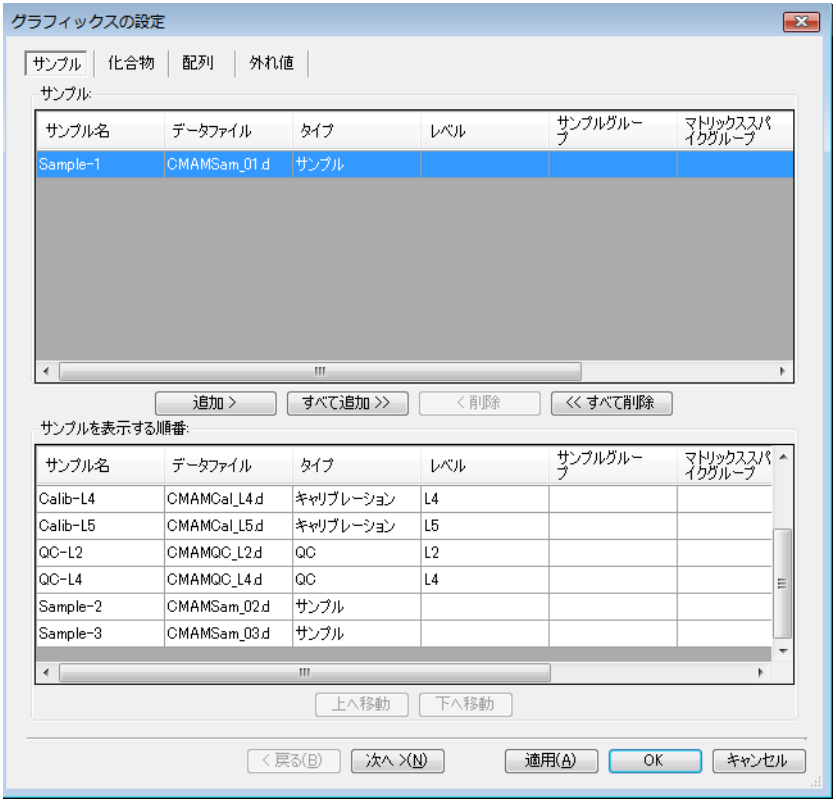


図 17　化合物クロマトグラムの一覧の設定オプション

化合物の確認

図 18 に示す図は、認定された薬物検査研究所にとって付加価値の高いものです。これは、THC 分析から得た 2 組のプロットを示しています。

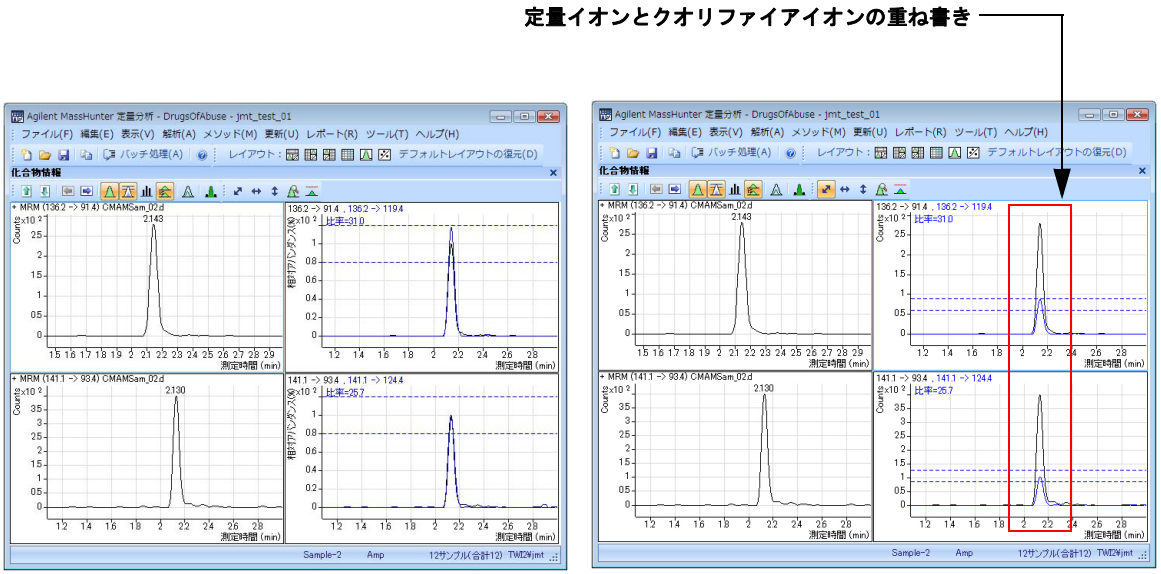


図 18 定量分析の Amp

確認のために、定量イオンとクオリファイアイオンの、2 つのプロダクトイオンを取り込む必要があります。通常、定量に使用するイオンは、2 つのプロダクトイオンの内強度の高い方です。

アンフェタミンの存在を確認するためには、クオリファイアイオンピーク面積が定量イオンの特定パーセント内になる必要があり、この数値は定量メソッドで設定します。この例では、26.5% を使用し、ウィンドウを ±20% にしています。これは、クオリファイアイオンの面積が、ターゲット化合物 Amp の定量イオンの 21.2%～31.8% の範囲になる必要があることを意味します。ISTD のクオリファイア、つまり Amp-d5 にも面積がおさまるべき特定の許容範囲が指定されています。

クオリファイアピークは 1/0.265 の係数でノーマライズされるため、左の図からクオリファイアイオンが許容範囲に入るか、入らないかを簡単には決定できません。右の図では、許容範囲は定量イオンピークの 26.5% に中心があり、クオリファイアイオンはノーマライズされずに、定量イオンと同じスケールで描かれます。イオンが許容範囲外の場合、定量イオンが隠れてしまわないよう、半透明の紫色でピークが塗りつぶされます。これにより、化合物を視覚的に容易に確認することができます。

化合物キャリブレーション

定量分析プログラムには、化合物のキャリブレーションや定量に役立ついくつかのツールが搭載されています。

- カーブフィットアシスタント
- データポイント情報用カーソルポインタ
- データポイントズーム

カーブフィットアシスタント

カーブフィットアシスタントにより、すべての検量線タイプを評価するための画面を提供します（図 19）。

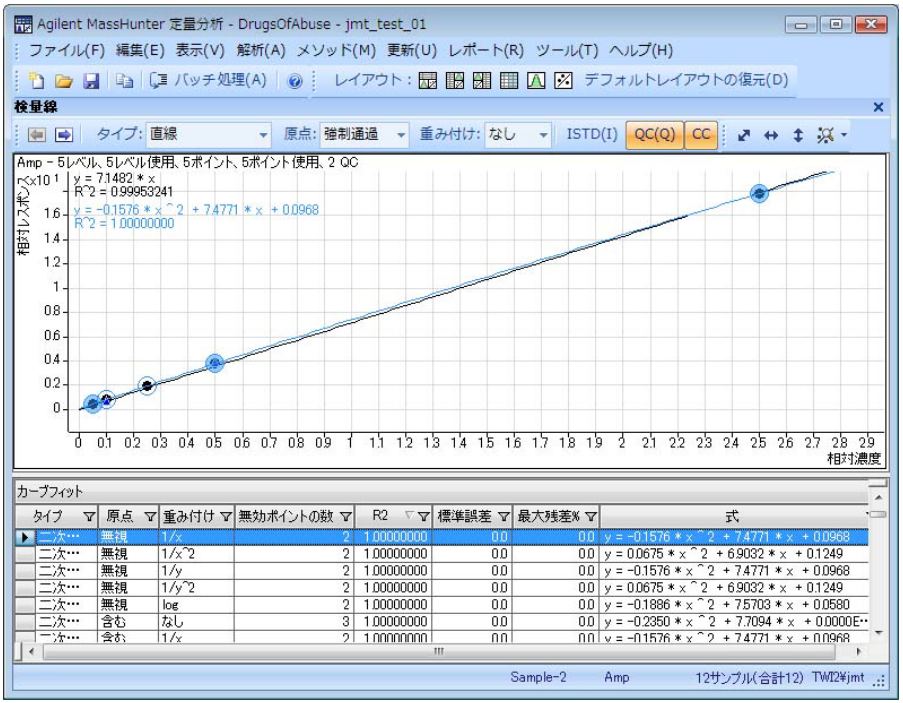


図 19 カーブフィットアシスタント

データポイントを用いて描かれた黒い線はフィットタイプに［二次曲線］、重み付けに［1/x］、原点に［含める] を用いています。青く強調表示されて選択した線とともに、その他多くのカーブフィット設定の組み合わせが検量線の下に記載されます。強調表示した設定内容もカーブフィットウィンドウに表示されます。

最良から最悪まですべての R^2 の結果をソートし、いくつのデータポイントを外れ値とみなすかを決定することにより、最も良い R^2 値を持つ検量線を見つけ出すことができます。

たとえば、リストの最初のパラメータは、直線近似、原点無視、均等重み付けです。対応する R^2 値は 0.9998001477 で、非常に良い値です。テーブル上でこのエントリをクリックするだけで、対応するカーブをプロットさせることができます。

これらの設定を用いて、データを再定量できます。外れ値の排除は、一部のラボに共通する標準的な操作手順（SOP）です。

データポイント情報

データポイントの重なりは、検量線、特に %RSD 値が非常に良いトリプル四重極 MS データを用いた場合では珍しいことではありません（図 20）。マウスカーソルをデータポイント上に移動すると、個々のデータポイントを区別できる詳細情報が表示されます。

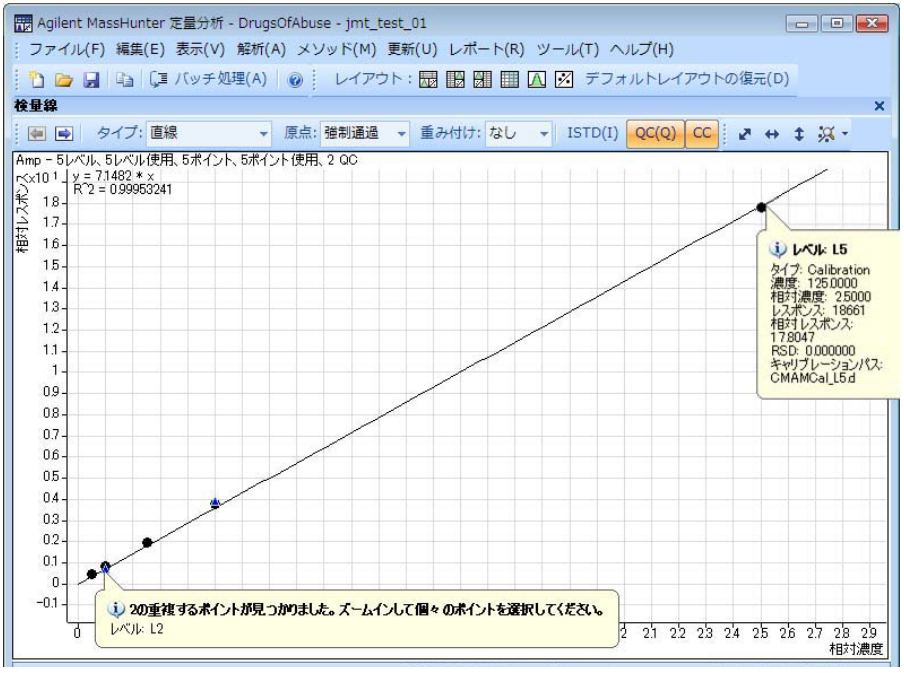


図 20　Amp 結果:キャリブレーションデータポイント情報

図に、そのような詳細情報の 2 つの例を示します。左側の例では、データポイントが重なっており、拡大してそれらを個別に確認する必要があることを示しています。右側の例では、データポイント自体の情報が示されています。

データポイントズーム

重なったデータポイントを拡大し、視覚的には見えない個々のデータポイントを確認できます。

www.agilent.com

本書の内容

ファミリアリゼーションガイドでは、定量分析プログラムの使用に役立つ実習方法を示します。このガイドでは、以下の内容を学習します。

- Agilent トリプル四重極 LC/MS と GC/MS データファイルを使用したバッチの設定と定量方法
- Agilent Q-TOF LC/MS データファイルを使用したバッチの設定と定量方法
- 定量結果の確認方法と異常値の発見方法
- 結果精度の改善方法
- 定量レポートの作成およびレビュー方法

© Agilent Technologies, Inc. 2011
第 1 版、2011 年 6 月
G3335-96108

Agilent Technologies